NEDERLANDSCHE PLANTENZIEKTENKUNDIGE (PHYTOPATHOLOGISCHE) VEREENIGING

TIJDSCHRIFT OVER PLANTENZIEKTEN

ONDER REDACTIE VAN

IR. N. VAN POETEREN, PROF. DR. W. K. J. ROEPKE EN PROF. DR. JOHA WESTERDIJK

40e Jaargang | 4e en 5e aflevering | April en Mei 1934

(1) UITWENDIGE EN INWENDIGE SYMPTOMEN VAN BORIUMGEBREK BIJ TABAK

(WITH A SUMMARY: EXTERNAL AND INTERNAL SYMPTOMS OF BORON DEFICIENCY IN TOBACCO)

DOOR

IR. D. A. VAN SCHREVEN

INHOUD

Blz

1. Inleiding 98
2. Techniek 101
3. Macroscopisch onderzoek:
   A. Watercultuur 103
   B. Glaszandcultuur 106
4. Microscopisch onderzoek 107
5. Beschouwing 118
6. Samenvatting 120
7. Summary 122
8. Verklaring der afbeeldingen 126
   (Description of figures) 126
9. Literatuur 128

1. INLEIDING

SWANBACK (1927) was de eerste, die aantoonde, dat de tabaksplant bij aanwezigheid van sporen borium beter groeit dan bij afwezigheid van dit element. Hij werkte met waterculturen en vond na een vegetatieperiode van 90 dagen het grootste gewicht bij de planten, die 2.0 p.p.m. [1]), vervolgens bij die, die 0.5 p.p.m. boorzuur hadden ontvangen. Het kleinste gewicht hadden de planten, welke zonder borium waren gekweekt.

MCMURTREY (1929) vond, dat bij tabak bepaalde gebreksymptomen optreden, wanneer geen borium aan de voedingsoplossing werd toegevoegd, tevens, dat deze verschijnselen eerder optreden in geäereerde oplossingen, dan in niet geäereerde, hetgeen hij toeschreef aan de omstandigheid, dat de planten in het eerste geval relatief sneller groeiden.

MES (1930) heeft een goede beschrijving van de ziekteverschijnselen bij tabak gegeven: p. 35: „Die wortelstelsel in watercultures is baie klein en stokkerig, die wortels self is kort, dik en stomp, met baie dooie punte. Die blare is meestal kloroties, dik, hard, abnormaal van vorm, na onder toe omgebuig en met 'n bobbelige, onewe oppervlak, veral langs die hoofnerf. Die plant is klein, met kort internodië en die blare sit vlak op mekaar. Die groeipunt sterf af en word swart. Partykeer tree ook swart strepe op die stingels onder die blare op. As die top dood is, kan sijknoppe uitloop om 'n nuwe hoofas te vorm, maar meestal krij hulle dan ná 'n rukkie dieselfde siektesimptome."

Zij wijst erop, dat deze ziekteverschijnselen overeenkomen met de beschrijving, welke JOCHEMS (1926) geeft op p. 33 van de „topziekte", die op Sumatra voorkomt.

Volgens KUYPER (1930) wijken de door MES vermelde ziekteverschijnselen ten deele af van die der „topziekte": „...Deze laatste is gekenmerkt door het afsterven van de top; bij overigens gezond lijkende planten wordt plotseling de top abnormaal, de jongste blaadjes zijn vervormd, worden tenslotte knobbeltjes, de top wordt zwart en wordt tenslotte afgeworpen. Vandaar de naam „zelftoppers". Meestal groeit de top eerst eenzijdig uit, zoodat zij zich kromt. Speciaal op subhydrisch verweerde gronden, die vermoedelijk tertiair zijn (Soekaranda) komt zij algemeen voor. Uit genomen proeven bleek, dat de topziekte bijna geheel te bestrijden is door toevoeging van 3 mg boorzuur per plant. Een verband tusschen pH en optreden der ziekte kon niet worden gevonden."

Volgens MEURS (1932) is het mogelijk de topziekte geheel te

[1]) Parts pro million.

bestrijden met 6 mg boorzuur per plant, opgelost in $\frac{1}{2}$ ltr water.

McMurtrey (1933) vergelijkt de boriumgebreksymptomen bij tabak met die van kalkgebrek: „A shortage of calcium first becomes apparent as a peculiar hooking downward of the tip of the young leaves of the bud, followed by the death of the young leaves at their tips and margins, and if later growth takes place the tips and margins show a cut-out appearance. In contrast with this effect, a shortage of boron is shown in a lightgreen color at the base of the young leaves of the bud, followed by their breakdown which, if not too severe, is followed by later growth, which causes the young leaves to become distorted or twisted at their bases. In most cases of boron deficiency the tip of the leaf remains alive for some time after the base has broken down."

Aan de mogelijkheid van het vóórkomen van boriumgebrek bij tabak op Java doen m.i. de beschrijving en afbeelding van Jensen (1920) denken, die hij geeft van de „zwarte poepoesziekte", waarvan de oorzaak onbekend is, p. 56: ..De planten bleven klein, doordat de poepoes (het hart) ziek werd en niet kon doorgroeien. De zieke poepoes werd droog en zwart, met eigenaardig omgebogen punten van de kleine blaadjes. Onder de zieke poepoes werden de andere bladeren (vermoedelijk wegens de met de stremming van de sapbeweging verbonden overvoeding) dik en rimpelig. Later werden nieuwe zijtakken gevormd onder de doode poepoes. Deze zijtakken konden echter nooit een normaal uiterlijk aan de plant geven. De ziekte trad pleksgewijze op, een stuk of 50 tot 100 planten aangrijpend in ieder complex. (Slechts één keer werd deze ziekte gevonden op de onderneming Kebon-Agoeng.)

In elk geval is men er in Deli niet van overtuigd, dat de topziekte een gevolg zou zijn van boriumgebrek, zooals mij ook bleek uit een gesprek met de heer Ir. J. van der Poel (verbonden bij het Deliproefstation). Het genezen van deze ziekte met borium vergeleek hij met het genezen van koorts door middel van aspirine. In dit laatste geval mag men immers ook niet zeggen, dat koorts een gevolg is van aspirinegebrek! Analysen op borium van gronden in de gebieden, waar gezonde tabak groeide hadden volgens hem een negatief resultaat gegeven. Jammer genoeg zijn geen analysen van gezonde en zieke planten op dit element verricht. Het is toch zeer goed denkbaar, dat de plant als biologisch reagens op sporen borium in de grond gevoeliger is, dan welk chemisch reagens ook. Door accumulatie toch, zal de concentratie van het borium in de droge substantie of in de asch van de plant grooter geworden zijn, dan de concentratie in de grond.

Er zijn trouwens voorbeelden in de literatuur bekend, waarbij het wèl gelukt is borium aan te toonen in de plant en niet in de grond, waarop deze plant groeide, b.v. BAUMERT (1887) kon steeds borium aantoonen in de wijnstok: p. 63, echter niet in de grond, waarop deze wijnstok was gekweekt: p. 86. Dat borium ook voor kan komen in tabak bewees HOTTER reeds in 1890, toen uit zijn analysen bleek, dat dit element aanwezig was in sigaren. Hierbij dient natuurlijk wel in aanmerking genomen te worden, dat het feit op zichzelf van het vinden van een element in een plant, nog geen bewijs ervoor hoeft te zijn, dat de plant dit element bepaald noodig heeft. Er zijn immers genoeg voorbeelden bekend, dat planten elementen op kunnen nemen, die zij voor een normale ontwikkeling niet noodig hebben.

Het feit, dat de verschijnselen van de topziekte niet geheel overeenkomen met die beschreven door MES voor boriumgebrek, zou m.i. een gevolg kunnen zijn van verschil in groeiomstandigheden: MES kweekte de tabak in watercultuur, waarbij de planten niet blootgesteld waren aan weer en wind, terwijl op Sumatra de tabak in de volle grond groeit en daarbij afhankelijk is van wisselende weersgesteldheid: perioden van droogten worden er gevolgd door perioden van vochtigheid, zoodat de groei meer schoksgewijs verloopen zal. De kans van het afvallen der doode toppen is op 't veld onder deze omstandigheden dus grooter dan in de kas.

Wegens het verschil in meening, dat er bestaat over de oorzaak van de „topziekte", is het gewenscht dit vraagstuk nog eens onder handen te nemen en hierbij leek het mij vooreerst van belang te trachten:

1. boriumgebrekverschijnselen bij tabak teweeg te brengen in zandcultuur (daar dit nog nooit gelukt is) en deze te vergelijken met:

   a. boriumgebreksymptomen verkregen in watercultuur en

   b. de door JOCHEMS en KUYPER beschreven „topziekte".

2. een anatomische beschrijving te geven van het inwendige ziektebeeld van tabak, welke aan boriumgebrek lijdt, zoodat deze later eventueel vergeleken kan worden met het anatomische ziektebeeld van planten met „topziekte".

Gedeeltelijk is de hierna te beschrijven proef eveneens genomen ter vergelijking met meer uitgebreide proeven over boriumgebrek bij de aardappel, die in dezelfde richting wijzen.

2. TECHNIEK

Als proefplant werd gebruikt Rhenensche tabak, die te kiemen werd gelegd in zuiver glaszand, waaraan de noodige (zuivere) zouten, met weglating van borium, waren toegevoegd. Het begieten van de kiemplanten geschiedde met gedestilleerd water. Het plaatsen in de watercultuur geschiedde anderhalve maand na het uitzaaien. De planten waren toen juist ver genoeg ontwikkeld om in de kurk te passen en met het vegetatiepunt vlak boven de kurkopening uit te komen. Voor de glaszandcultuur werden planten van dezelfde leeftijd gebruikt.

A. Watercultuur

Hierbij werden de planten gekweekt in jampotten met een inhoud van 600 cc. De buitenwand en het deksel werden tweemaal eerst zwart, daarna wit geverfd, waarvoor resp. schoolbordenzwart en witte Japansche lak werden gebruikt. De binnenwand van de potjes en de binnenkant van het deksel werden daarna bedekt met een laagje paraffine met een smeltpunt van 52° C., om eventueel uittreden van borium uit het glas en koper uit het deksel te voorkomen. Het te paraffineeren materiaal werd hiertoe eerst voorverwarmd in een stoof bij een temperatuur van ongeveer 45° C., zoodat de vloeibare paraffine bij het ingieten niet al te snel stolde. Dit is van belang voor het verkrijgen van een niet te dikke paraffinelaag, daar deze anders (door de grootere opwaartsche druk) makkelijker van de wand loslaat. In het deksel van de jampot was een gat geboord met een diameter van 3,5 cm. Hierin paste een doorboorde kurk van $\pm$ 1,5 cm dikte, waarvan $\pm$ 0,5 cm onder het deksel uitstak, zoodat de kurk niet in aanraking kwam met de voedingsoplossing. De kurken werden, alvorens in de opening van het deksel gezet te worden, overlangs gehalveerd, om de plantjes later gemakkelijk van de kurk te kunnen ontdoen, indien dit noodzakelijk zou blijken te zijn, b.v. voor die gevallen, waarbij de stengel zóódanig in dikte was toegenomen, dat de kurkopening vergroot moest worden. De plantjes werden in de kurkopening vastgehouden door middel van watten. Als voedingsoplossing werd gedestilleerd water gebruikt met gegarandeerd zuivere zouten van de Firma „Schering—Kahlbaum", en wel de oplossing, die MES met het meeste succes gebruikt heeft bij tabak (p. 25).

Per liter opl. werd gegeven:

1.00 g KNO_3
0.50 g $MgSO_4$ 7aq
0.50 g $CaSO_4$ 2aq
0.611 g $Ca(H_2PO_4)_2$ 2aq
0.25 g $Fe_3(PO_4)_2$ 8aq

De contrôlepotten kregen borium als bestanddeel van een oplossing, voor het gemak oplossing X genoemd en waarvan zooveel werd toegevoegd, dat per liter oplossing aanwezig was:

0.0005 g H_3BO_3
0.0015 g $MnSO_4$ 4aq
0.0005 g $Al_2(SO_4)_3$
0.000125 g $CuSO_4$ 5aq
0.00025 g KJ
0.00025 g KF
0.0005 g $ZnSO_4$ 7aq

terwijl de planten, die geen borium ontvingen, eveneens de zouten van oplossing X kregen, met uitzondering van boorzuur (opl. Y).

Van de zouten van oplossing X of Y werd het 100-voudige afgewogen en opgelost in een kolf van 1000 cc, waarna met een pipet telkens 10 cc in de potjes werd overgebracht. Geregeld werd het verbruikte water bijgevuld met gedestilleerd water, terwijl de lengte der plantjes, (vanaf de bovenkant van de kurk tot aan het vegetatiepunt) elke week werd gemeten.

B. Glaszandcultuur

Gebruikt werden potten met geglazuurde binnenwand (diam. 18 cm, diepte 23 cm), waarin 7 kg glaszand werd gebracht (van de glasfabriek te Leerdam). Uit een aantal metingen bleek, dat de diameter der korrels van het glaszand ongeveer variëerde tusschen 100 en 550μ. Enkele potten werden gevuld met glaszand, dat gedurende minstens 24 uur behandeld was met geconcentreerd ruw zoutzuur en vervolgens gedurende een halve dag schoongespoeld met leidingwater. Andere potten werden gevuld met onbehandeld glaszand.

Bemesting:

Per pot werd gegeven:

2.00 g KNO_3
1.00 g $MgSO_4$ 7aq
1.50 g $CaSO_4$ 2aq
1.222 g $Ca(H_2PO_4)_2$ 2aq
0.50 g $Fe_3(PO_4)_2$ 8aq

Bij de potten met volledige bemesting werd hieraan toegevoegd oplossing X, terwijl de potten, waaraan geen borium werd toegediend, van oplossing Y werden voorzien. Hierbij werd aangenomen, dat elke pot gemiddeld één liter water bevatte, aangezien de watercapaciteit van het zand 25,02 bedroeg en bij 60% van de watercapaciteit per pot ongeveer een liter water aanwezig was.

Deze meststoffen werden grondig met het glaszand vermengd, dat vochtig gehouden werd met gedestilleerd water.

3. MACROSCOPISCH ONDERZOEK

A. Watercultuur

Op 4 Mei werden tien plantjes (genummerd 1–10) geplaatst in de cultuuroplossing zonder borium en vier plantjes (11–14) in een oplossing met borium. Na een week was reeds verschil in groei op te merken tusschen de meeste plantjes van de eerste serie en die van de tweede serie, voornamelijk wat betrof de ontwikkeling van het wortelstelsel en de bladgrootte, terwijl het verschil in hoogte van de planten eerst na vijf tot zes weken duidelijk was waar te nemen.

Na zestien dagen vertoonden drie plantjes der eerst serie duidelijke ziektesymptomen: het vegetatiepunt kleurde zich donker en stierf vrij spoedig daarna af, terwijl de gebieden tusschen de nerven een lichtere tint aannamen. Vijf dagen later was een vierde plant duidelijk ziek. Eerst na 42 dagen kon worden vastgesteld, dat *alle* plantjes, die geen borium hadden ontvangen, duidelijke ziekteverschijnselen vertoonden; de planten reageerden dus verschillend snel.

De bladeren (vooral die ter halve hoogte van de plant) kregen kleine, geelgroene, meest ronde vlekjes tusschen de nerven, terwijl aan weerskanten der nerven een strook donkergroen weefsel bleef bestaan. Op later stadium kon het bladoppervlak sterk gebobbeld zijn, terwijl vele bladeren de bladpunt en bladranden sterk naar beneden hadden gebogen. De kleine, lichter gekleurde gebieden, hadden zich meer uitgebreid, zoodat de planten een chlorotisch uiterlijk kregen, toenemend in intensiteit naar de voet van de plant: fig. 1. De nerven staken duidelijker af tegen het bladweefsel, dan het geval was bij de contrôleplanten, welke borium hadden ontvangen en bij nadere beschouwing bleek de voornaamste oorzaak hiervan gelegen te zijn in het feit, dat bepaalde inwendig gelegen gebieden necrotisch waren geworden, hetgeen met het bloote oog reeds was waar te nemen. De internodiën bleven kort, zoodat de bladeren vlak op elkaar zaten en als gevolg hiervan hadden de planten een sterk gedrongen habitus. Bij het afsterven der oudere bladeren begonnen de bladranden, meestal het eerst bij de bladpunt, te vergelen en vervolgens te verdorren. Na plaatsing van de zieke planten in het donker gedurende 16 uur, bleek, dat het zetmeel in de bladeren voor het grootste deel nog als zoodanig aanwezig was (behandeld volgens de joodproef van Sachs), waarbij vooral nog sterke zet-

meelophooping werd geconstateerd in de gebieden, welke gelegen waren aan de periferie van het blad: fig. 3, hetgeen ook verklaart, dat juist in deze gebieden het bladweefsel het eerst verdort.

De lengtemetingen, gedurende de eerste negen weken van de vegetatieperiode, telkens na een week verricht, zijn voor de eerste serie opgenomen in *tabel* I en voor de tweede serie in *tabel* II.

TABEL I.

Lengtemetingen van planten, gekweekt in watercultuur zonder B., gedurende de eerste negen weken van de vegetatieperiode, telkens na een week verricht, uitgedrukt in cm

[*Length of plants, grown in water culture without boron, during the first nine weeks (in cm)*]

Weken [*Weeks*]	no 1	no 2	no 3	no 4	no 5	no 6	no 7	no 8	no 9	no10	Gem. [*Average*]
	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1	0,2	0,2	0,1	0,0	0,1	0,1	0,2	0,2	0,3	0,5	0,19
2	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,6	0,2	0,4	0,5	0,32
3	0,7	0,2	0,6	0,6	0,6	0,7	1,1	0,4	0,7	0,9	0,65
4	1,1	0,2	1,0	1,1	0,7	1,2	1,5	0,6	2,5	–	1,10
5	1,6	0,6	–	1,3	1,2	2,5	1,7	0,7	3,8	–	1,67
6	1,7	1,4	–	4,2	4,6	4,5	2,3	2,2	4,5	–	3,17
7	1,7	2,3	–	4,2	6,4	4,5	2,5	2,5	4,7	–	3,60
8	1,9	3,3	–	4,2	6,5	4,5	2,5	2,9	4,9	–	3,83
9	2,7	4,3	–	4,6	6,7	4,5	2,5	3,2	4,9	–	4,17

TABEL II.

Lengtemetingen van planten, gekweekt in watercultuur met 0.0005 g H_3BO_3 per liter, gedurende de eerste negen weken, telkens na een week verricht, uitgedrukt in cm

[*Length of plants, grown in water culture with* 0.0005 *g* H_3BO_3 *per liter, during the first nine weeks (in cm)*]

Weken [*Weeks*]	no 11	no 12	no 13	no 14	Gem. [*Average*]
	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1	0,3	0,5	0,3	0,1	0,30
2	0,4	0,6	0,5	0,2	0,42
3	1,2	1,1	1,1	0,6	1,00
4	1,5	1,2	3,0	1,5	1,80
5	2,9	2,5	5,5	3,0	3,47
6	7,0	5,9	10,9	9,1	8,22
7	14,1	10,8	17,2	15,5	14,40
8	23,5	18,8	29,5	29,5	25,32
9	41,5	35,9	44,7	46,3	42,10

Zooals uit de tabellen blijkt, bedroeg de gemiddelde lengte der plantjes, die zonder borium waren gekweekt na negen weken 4,17 cm en die der planten welke per liter oplossing 0.0005 gram boorzuur ontvingen 42,10 cm.

Plant 3 werd na vier weken gefixeerd, terwijl plant 10, welke duidelijke boriumgebreksymptomen had, na drie weken (op 25 Mei) geplaatst werd in een oplossing met 0.0005 g boorzuur p. ltr, met als gevolg nieuwe wortelontwikkeling en het uitloopen van een zijknop, die zes weken later uitgegroeid was tot een stengel van 18,6 cm lengte met een geheel normaal uiterlijk. Vijf planten der serie zonder borium werden na negen weken gefixeerd, de overige planten werden aangehouden; pas half Augustus begonnen zij af te sterven, dus ruim vijf maanden na het plaatsen in de oplossing zonder borium. Zij hadden toen een gemiddelde hoogte van 5,5 cm, terwijl de contrôleplanten 13 en 14 een gemiddelde lengte van 58,5 cm bereikten. Op 7 *Juli* werden de planten 11 en 12 en bovengenoemde plant 10, in een oplossing zonder borium beplaatst. Plant 11 had op dit tijdstip reeds duidelijke bloemknoppen, plant 12 vertoonde een begin van knopvorming, terwijl plant 10 nog geen bloemknoppen had gevormd. Op 25 *Juli* hadden alle drie planten duidelijke ziektesymptomen. Tot bloemvorming kwam het niet, terwijl de contrôleplanten 13 en 14 vrij veel zaad produceerden. Plant 10 maakte zelfs geen bloemknoppen en de uitgeloopen okselknoppen stierven spoedig af. Toen de okselknoppen van 10 en 12 alle waren afgestorven, bleek dit nog niet het geval te zijn met de knoppen van 11, welke de grootste plant was. Het is mogelijk, dat dit kwam doordat deze plant de grootste reservevoorraad borium ter beschikking had en dit element in de plant eenigszins verplaatsbaar is, hoewel hierdoor niet verklaard wordt, dat de eerste gebreksymptomen vrijwel gelijktijdig bij de drie planten optraden. Het is m.i. niet onmogelijk, dat de verklaring gezocht moet worden in de omstandigheid, dat deze laatste plant in een stadium verkeerde van minder snelle groei (de plant was nl. vrijwel volwassen), dan het geval was bij de beide overige planten, zoodat de uitloopende deelen van de planten 10 en 12 relatief meer borium noodig hadden. Het ziektebeeld, dat verkregen werd bij de planten 10, 11 en 12 verschilde van dat der serie, die vanaf het begin der vegetatieperiode zonder borium waren gekweekt in dit opzicht, dat plant 10 een veel minder „gedrongen" habitus had, terwijl 11 en 12 in het geheel geen gedrongen bouw vertoonden. Bij 10 kregen slechts de bladeren van het topgedeelte een gebobbeld oppervlak, terwijl ook slechts bij deze bladeren de nerven scherper afstaken bij het overige bladweefsel. De eindknop en

de zijknoppen (te beginnen bij de onderste) waren echter alle afgestorven. Bij 11 en 12 behielden alle bladeren, die reeds gevormd waren een normale habitus, terwijl de ziekte slechts tot uiting kwam in het afsterven der zijknoppen en het afvallen der bloemknoppen.

B. Glaszandcultuur

Twee potten: 68 en 70 met onbehandeld glaszand kregen een normale bemesting. Drie potten: 71, 72 en 73, gevuld met glaszand, dat behandeld was met zoutzuur, kregen de noodige meststoffen met uitzondering van boorzuur. Twee potten: 74 en 75 met onbehandeld glaszand kregen dezelfde bemesting als 71, 72 en 73.

Op *23 Mei* werd per pot één plantje uitgezet. Op *19 Juni* was reeds duidelijk te zien, dat de planten in de potten 68 en 70 zich beter hadden ontwikkeld dan de overige. Hierna volgden, wat ontwikkeling betrof, de planten, die gekweekt waren zonder borium in het onbehandelde glaszand. De planten van de potten 72 en 73 waren het kleinst. De plant van pot 71 was iets grooter.

Op *10 Juli* traden de eerste, duidelijke ziektesymptomen van boriumgebrek op bij de plant van pot 71 (welke aanvankelijk beter groeide dan die van de potten 72 en 73). De bladgedeelten tusschen de nerven der topbladen waren naar boven gebobbeld, terwijl de bladpunten naar omlaag waren gebogen. Het vegetatiepunt begon af te sterven: fig. 2. De plant zag er over het geheel iets chlorotisch uit. Bij de plant van pot 73 was de bobbeling in de gebieden tusschen de nerven der topbladen zwakker. Deze plant was kleiner dan de plant van pot 71 en iets minder chlorotisch. De plant wan pot 72 was de kleinste en had nog een normaal uiterlijk, ofschoon de kleur iets lichter was. De planten van de potten 74 en 75 waren donker van kleur en hadden een geheel normale habitus. Wel waren ze een stuk kleiner dan de planten van de potten 68 en 70, die boorzuur hadden ontvangen en die een volkomen normaal uiterlijk vertoonden.

Op *26 Juli* waren de planten van de potten 71, 72 en 73 zeer duidelijk ziek. De eerste plant was het sterkst aangetast, iets minder sterk de tweede en nog iets minder de derde. De vegetatiepunten waren volkomen afgestorven, de bladeren sterk gebobbeld en chlorotisch. De nerven staken duidelijk af tegen het overige bladweefsel en bij nadere beschouwing kon met het bloote oog reeds worden waargenomen, dat bepaalde weefsels necrotisch moesten zijn geworden. De internodiën waren zeer kort gebleven, zoodat de bladeren vlak op elkaar zaten, waardoor de klein gebleven planten een sterk gedrongen habitus hadden. Aan de

bladranden der onderste bladeren waren necrotische gebieden ontstaan, meestal beginnend bij de bladpunt.

Van de beide planten, die gekweekt werden zonder borium in onbehandeld glaszand had de plant van pot 74 een normale habitus, ofschoon deze plant zeer veel kleiner was dan de contrôleplanten, die borium hadden ontvangen en op deze dag reeds van bloemknoppen waren voorzien. De andere plant, van pot 75, eveneens gekweekt zonder borium in glaszand, dat niet met zoutzuur was behandeld, was ongeveer een voet hoog en vertoonde zeer typische ziektesymptomen: de bladeren van het topgedeelte hadden een gebobbeld oppervlak tusschen de nerven, die duidelijk afstaken tegen het overige bladweefsel. Met het bloote oog konden in deze nerven bruine gebieden worden waargenomen, zooals het geval was bij de planten der potten 71, 72 en 73. Langs de nerven der topblaadjes bevonden zich weefselgebieden, die iets donkerder gekleurd waren dan het overige gedeelte tusschen de nerven. De onderste bladeren waren meer egaal chlorotisch en hadden een veel minder gebobbeld oppervlak. Het topgedeelte begon af te sterven, waarbij ook enkele jonge blaadjes betrokken werden, terwijl *het topgedeelte zich kromde*. Op *7 Augustus* waren de okselknoppen eveneens afgestorven: fig. 4.

Op 16 *Augustus* werden de planten geoogst. De planten van de potten 71, 72, 73 en 75 waren sedert 10 *Juli* nagenoeg niet gegroeid. De plant van pot 74 vormde zelfs eenig zaad, behield een normale habitus, bleef echter duidelijk achter bij de contrôleplanten, die borium hadden ontvangen. De wortelontwikkeling bij de planten, die geen borium ter beschikking hadden, was zwak, vergeleken bij die der contrôleplanten, welke borium ontvingen. In het laatste geval waren de wortels veel talrijker, langer en dunner, tevens lichter van kleur. Hierdoor wordt het waarschijnlijk, dat de planten met boriumgebrek minder goed in de gelegenheid geweest zullen zijn om van de andere zouten evenveel op te nemen als de planten met een langer wortelstelsel, hetgeen vooral zal gelden voor díe zouten, die slecht gedissocieerd zijn.

4. MICROSCOPISCH ONDERZOEK

Voor het anatomisch onderzoek werd zoowel materiaal van waterculturen als van glaszandculturen gebruikt. Een gedeelte hiervan werd gefixeerd bij 90° C. in een mengsel van 100 cc 70% alcohol, 3 cc ijsazijn en 3 g sublimaat. Na afloop hiervan werd uitgewasschen met 70% alcohol, tot de bruine kleur, veroorzaakt door een druppel jood-oplossing behouden bleef. Van dit materiaal werden coupes van 10μ dikte gemaakt met een microtoom.

Een ander gedeelte werd versch onderzocht, of dadelijk in 70% alcohol gebracht en met de hand gesneden. Zieke planten werden met gezonde vergeleken, die dezelfde behandeling hadden ondergaan. Sommige coupes werden behandeld met J.J.K., andere, met phloroglucine en HCl, met Soedan III, met gentiaan violet, of met lactophenol.

a. Jonge wortel

Aan een plant kunnen jonge wortels gevonden worden, die sterke symptomen van boriumgebrek hebben, andere, die er volkomen normaal uitzien en weer andere, die een beginstadium der ziekte vertoonen.

De eerste inwendige symptomen van aantasting zijn meestal te vinden in de *initialen* van het worteleinde, gelegen tusschen wortellichaam en calyptra. De celwanden en celinhoud worden bruin gekleurd. De cellen van het *procambium* en de hooger gelegen *cambiumcellen* worden eveneens aangetast, zoodat verdere wortelgroei uitgesloten is. De cellen, die zich ontwikkelen uit de zieke initialen, procambium- en cambiumcellen zijn dus van de aanvang af ziek. De aantasting breidt zich in het worteleinde geleidelijk verder uit tot in het *schorsgedeelte*. Ook de overige cellen van het *meristeemgedeelte*, waarin de vaatbundels uitmonden, gaan ten slotte te gronde, fig. 6, weldra gevolgd door het geheele worteleinde. De functie der vaatbundels wordt dermate in de war gestuurd, dat zoowel *hout-* als *zeefvaten* afsterven, beginnend bij het meristeemgedeelte. Bruingekleurde houtvaten zijn vaak op lengtedoorsnede over eenige afstand in de jonge wortel te vinden.

Vooral in het *schorsparenchym* vervormen de cellen zich dikwijls zeer sterk. De aantasting van de wand begint vaak in de hoekpunten, waar vier cellen bij elkaar komen en breidt zich dan geleidelijk uit over de overige celwanden. Zoo worden vaak cellen aangetroffen, waarvan slechts één of twee wanden, die dwars op elkaar staan, bruin zijn gekleurd, terwijl de celkern en het plasma nog niet van kleur zijn veranderd. Een enkele maal worden wel cellen gevonden met bruingekleurde celkern en normaal gekleurde celwand, doch in het algemeen begint de eerste bruinkleuring op te treden in de wand. Het plasma lijkt in de aangetaste cellen vaak licht- tot donkerbruin gekleurd, maar of dit in werkelijkheid steeds het geval is, is lastig uit te maken, daar dit plasma immers gezien wordt door een gekleurde celwand. Blijkbaar treden in de celwanden als gevolg van de aantasting, bepaalde spanningen op. De wanden tusschen twee aangrenzende cellen kunnen vaneenwijken. Sommige wanden rekken zich in een bepaalde richting sterker

dan in een andere richting, vaak ten koste van aangrenzende cellen, waarvan de wanden geheel kunnen worden samengevouwen.

In het jonge meristeemweefsel komen dergelijke celvervormingen minder vaak voor.

Als gevolg van het afsterven van het vegetatiepunt loopen andere secundaire wortels uit. Vele van deze secundaire wortels steken slechts een klein stukje buiten de schors van de primaire wortel uit, andere sterven af, nog vóórdat ze de schorsoppervlakte hebben bereikt, hetgeen vooral het geval is met de laatstgevormde worteltjes.

b. Oudere wortel (fig. 7)

Bij sterk aangetaste wortels vindt men op elke hoogte inwendige ziekteverschijnselen, het sterkst op die plaatsen, waar secundaire wortels uit de primaire ontspringen. In zulke wortels vallen de talrijke bruingekleurde, vaak vervormde *schorsparenchymcellen* en de vaak nog sterker gekleurde cellen van de *exodermis*, die gedeeltelijk ook aangetast kunnen zijn, duidelijk op. Bij planten, die gekweekt zijn in watercultuur, scheurt de aangetaste exodermis zeer makkelijk. Vergeleken met een gezonde wortel van dezelfde diameter blijkt het gedeelte tusschen endodermis en xyleem sterk verbreed te zijn. De *cambiumcellen* zijn in aantal, vergeleken met gezond weefsel, toegenomen en vele zijn vervormd en bruin gekleurd. Ditzelfde is het geval met de *phloëemcellen*, die sterk in aantal zijn toegenomen en waarvan vele, vooral in radiaire richting zijn uitgerekt. Zoowel primair als secundair phloëem kan sterk zijn aangetast, waarbij heele complexen van cellen ineengeschrompeld en licht- tot donkerbruin gekleurd zijn. Door de sterke toename van het phloëem zijn de cellen van het pericambium meestal sterk in tangentieele richting uitgerekt en iets samengedrukt. Zoowel cellen van de endodermis als van het pericambium kunnen aangetast zijn. Het *xyleem* is, vergeleken met dat van een even oude, gezonde wortel, meest slecht ontwikkeld en men vindt hierin minder groote vaten. Ook in dit weefsel kunnen aangetaste gedeelten voorkomen. De wanddikte van het xyleem is afgenomen: bij gezond weefsel kunnen de wanden tot 4,5μ dik worden, bij sterk aangetaste wortels van gelijke diameter bedroeg de grootste wanddikte 2,6μ. In tabel III vindt men enkele metingen van weefsels bij gezond en ziek materiaal.

In de aangetaste celwanden kan geen kurkstof worden aangetoond met Sudan III, een kleurstof, waarop de celwanden van de exodermis steeds positief reageeren. Evenmin wordt in de aangetaste celwanden houtstof gevormd, daar het weefsel na

TABEL III

Aantal cellagen en dikte van verschillende weefsels in wortels van ± gelijke diameter, respectievelijk van een normale plant en van planten, gekweekt zonder B. in glaszand (pot 75) en watercultuur

[*Number of cell rows and thickness of different tissues in roots with about the same diameter from a normal plant and from plants, grown without boron, in glass-sand and waterculture*]

Verschillende weefsels (*different tissues*)	normaal gem. worteldiameter 2600 mu (*normal*) (*average diameter of the root 2600 mu*)		geen borium, glaszandcultuur gem. worteldiameter 2600 mu (*no boron, glass-sand culture*) (*average diameter of the root 2600 mu*)		geen borium, watercultuur gem. worteldiameter 2600 mu (*no boron, water culture*) (*average diameter of the root 2600 mu*)		geen borium, watercultuur gem. worteldiameter 2000 mu (*no boron, water culture*) (*average diameter of the root 2000 mu*)	
	aantal cellagen (*number of cell rows*)	gem. dikte in mu's (*average thickness in mu's*)	aantal cellagen (*number of cell rows*)	gem. dikte in mu's (*average thickness in mu's*)	aantal cellagen (*number of cell rows*)	gem. dikte in mu's (*average thickness in mu's*)	aantal cellagen (*number of cell rows*)	gem. dikte in mu's (*average thickness in mu's*)
Exodermis	3–5	120	3–8	220	7–8	260	10–11	260
Schors [*Cortex*]	8–11	550	10–11	425	6–12	520	9–11	250
Endodermis	1	50	1	45	1	25	1	26
Pericambium [*Pericycle*]	–	–	1	30	1	20	1	20
Phloëem [*Phloem*]	–	50	–	90	–	350	–	300
Cambium	2–3	38	3–4	52	4–6	75	4–6	70
Xyleem [*Xylem*]	46	1100	35	900	30	650	15	290
Gedeelte tusschen xyleem en endodermis . [*Part between xylem and endodermis*]	–	100	–	150	–	450	–	400

behandeling met phloroglucine en HCl ongekleurd blijft, in tegenstelling met het houtgedeelte. De behandeling met gentiaanviolet droeg niet bij tot verduidelijking van het ziektebeeld. Cellen met kristalgruis werden zoowel in gezond als in ziek weefsel aangetroffen. Bij sterk aangetaste wortels was het aantal cellen met kristalgruis echter grooter, vooral in de buurt der meristematische deelen.

c. Stengel

Bij jonge plantjes, gekweekt in watercultuur zonder borium, zijn reeds na drie weken in de stengel duidelijke inwendige ziekteverschijnselen waar te nemen. De eerste symptomen treden op in het procambiale gedeelte van de vegetatiekegel, op dezelfde wijze als in de jonge wortel. De uiterste gedeelten van de *vaatbundels*, die in de vegetatiekegel uitkomen, worden daarna eveneens aangetast, tevens het *schors-* en *mergparenchym*, zoodat ten slotte de geheele vegetatiekegel te gronde gaat.

Op dwarse doorsnede, op een korte afstand onder het vegetatiepunt, blijkt het vaatbundelgedeelte meestal te zijn aangetast, terwijl het overige gedeelte nog een gezond uiterlijk heeft. Als gevolg van het afsterven van de top, hetgeen te vergelijken is met ,,toppen'' van de plant, zullen de okselknoppen uitloopen, voor zoover er borium aanwezig is voor de zich deelende en groeiende cellen. Is de boriumvoorraad uitgeput, dan zullen ook in de okselknoppen, te beginnen in de procambiale zône, necrotische gedeelten ontstaan, die zich eerst uitbreiden over de sterk groeiende deelen van de vegetatiekegel en vervolgens over de cellen van het vaatbundelgedeelte, zoodat deze tot aan de voet van de okselknop afsterven, waarna in het vaatbundelgedeelte van de knoop en in dat van de bladsteel, (waartusschen het vaatbundelgedeelte van de okselknop gelegen is) ziekteverschijnselen optreden. De aantasting blijkt telkens het sterkst te zijn in dàt gedeelte van de knoop, waar een bladsteel en okselknop in de stengel komen. Het kan voorkomen, dat in een internodium, tusschen twee nodiën met inwendige ziekteverschijnselen, symptomen ontbreken. De afstervingsverschijnselen, die een gevolg zijn van boriumgebrek treden het eerst op in de snelst groeiende deelen en de directe omgeving daarvan, althans in het begin.

In een later stadium kunnen in de meeste of in alle nodiën symptomen gevonden worden en wordt ook het weefsel tusschen de nodiën aangetast. Hoofdzakelijk vertoont hierbij het vaatbundelgedeelte ziekteverschijnselen, ofschoon ook alle andere weefsels plaatselijk gedegenereerd kunnen zijn. Evenals in de wortel zien we, dat *cambiumcellen* een bruine wand kunnen krij-

gen en dat andere cambiumcellen vaak in grootte en aantal toenemen. De *phloëem- en xyleemcellen*, die uit dit gedegenereerde cambium ontstaan, krijgen dan eveneens een abnormale bouw en kunnen spoedig afsterven. Telkens wordt nieuw phloëem gevormd. Hoe langer hoe meer wordt de normale functie van het vaatbundelsysteem in de war gestuurd. Dientengevolge zullen ook andere, reeds volwassen cellen, die afhankelijk zijn van het vaatbundelsysteem, niet meer normaal kunnen functioneeren, of afsterven. Het phloëem kan sterk in radiaire richting zijn uitgerekt, waarbij de afzonderlijke elementen moeilijk te herkennen zijn. Het *extraxylaire phloëem* valt in de eerste plaats aan de ziekte ten prooi. Later kan het binnen het hout gelegen phloëem eveneens gedeeltelijk of geheel te gronde gaan. Sommige elementen van het *houtparenchym* krijgen, wanneer ze worden aangetast, een licht- tot zwartbruine wand, terwijl de inhoud van deze cellen eveneens bruingekleurd kan zijn. Uitrekking of samendrukking van xyleemvaten komt meer sporadisch voor en dan in het zeer jonge houtgedeelte. Gedegenereerde cellen kan men ook in *pericambium*, *endodermis*, *schors- en mergparenchym*, *collenchym* en *epidermis* aantreffen. De celwanden kleuren zich dan bruin. Bij planten, die vanaf het begin van de vegetatieperiode in watercultuur geen borium ontvingen, was het opvallend, dat in vele schors- en mergparenchymcellen nog een kern van gem. 20μ grootte werd aangetroffen, meest bruin van kleur. Het plasma maakt ook de indruk bruingekleurd te zijn in de sterk aangetaste cellen. Men kan zich voorstellen, dat de celinhoud op een gegeven oogenblik, wanneer de cel niet meer normaal functioneert a.h.w. gefixeerd wordt. De meeste cellen bevatten veel zetmeelkorrels. Vervorming van celwanden kan optreden, waardoor sommige cellen uitgerekt, andere samengedrukt worden, regel is dit echter niet. Bij planten, die hevig te lijden hebben van boriumgebrek, worden vaak vele cellen met kristalgruis aangetroffen, een bewijs voor het ontstaan van abnormaal veel oxaalzuur, dat door kalk wordt neergeslagen. De deelen van de plant, die voor hun opbouw kalk noodig hebben, zullen hiervan relatief minder ter beschikking krijgen.

Fig. 8 stelt een dwarse coupe van de plant uit pot 75 voor, fig. 9 is gemaakt naar een overlangsche doorsnede in dit gebied. Een gedeelte van deze coupe had een volkomen normaal uiterlijk, terwijl een ander gedeelte hevige ziekteverschijnselen vertoonde. Daar het, wanneer we een gezond en ziek stengelgedeelte van twee verschillende planten met elkaar vergelijken, lastig is uit te maken, of we met even oud materiaal te maken hebben, is een dergelijke coupe, waarin gezond en ziek weefsel naast elkaar voor-

komen uitermate geschikt voor bestudeering van de invloed van aantasting op de groei der verschillende weefsels. Het gezonde cambium ging hier over in cambium, dat de eerste verschijnselen van aantasting vertoonde, dus gedeeltelijk afgestorven was, terwijl verderop de cambiumcellen nagenoeg geheel gedegenereerd waren. Het phloëem was op deze plaats sterk in radiaire richting gerekt. De meeste primaire phloëemelementen waren hier donkerbruin en afgestorven en lagen samengedrukt tegen de pericykel, waarvan eveneens verschillende cellen waren afgestorven. Tegenover het zieke phloëem bevonden zich talrijke licht-geel gekleurde vezels. Het zich in het zieke gedeelte bevindende xyleem was, vergeleken met dat in het gezonde gedeelte, veel minder goed ontwikkeld. De wanden der houtvaten waren veel minder dik: de wanddikte der cellen tegenover het zieke cambium bedroeg hoogstens 1,6μ, terwijl de grootste vaten in dit gedeelte een diameter hadden van 25μ. In het gezonde gedeelte van de stengel werden de wanden der houtvaten tot 3,2μ dik en bedroeg de diameter van de grootste vaten 52μ.

De plaatselijke aantasting in het vaatbundelsysteem bij deze plant geeft tevens de verklaring van het kromgroeien van het topgedeelte!

In het sterk zieke gedeelte groeit het phloëem sterk in radiaire richting, echter niet voldoende in lengterichting. Eveneens zullen andere cellen in het zieke gebied minder goed in lengterichting kunnen groeien dan de overeenkomstige in het normale gedeelte.

Metingen van weefsels in gezond en ziek materiaal zijn verricht. In *tabel IV* vindt men enkele gegevens ontleend aan typische voorbeelden.

d. Blad

1. Bladnerf

De inwendige ziekteverschijnselen beginnen en zijn het hevigst in de hoofdnerf, op de plaats waar deze in de stengel uitkomt en breiden zich uit tot in de fijnste zijnerven, waardoor de assimilaten en eiwitten niet in voldoende mate kunnen worden afgevoerd. In de nerven worden dezelfde ziekteverschijnselen gevonden als in de stengel: fig. 11. Het vaatbundelsysteem wordt hoofdzakelijk aangetast en hiervan weer meer in het bizonder de cambium- en phloëemcellen, waarbij vooral de laatste zich sterk in radiaire richting kunnen deelen. Alle andere cellen kunnen echter ook in het ziekteproces worden betrokken. Evenals in de stengel kan het gebied tusschen pericykel en xyleem sterk in radiaire richting zijn uitgerekt, vooral aan de onderzijde van de nerf, ofschoon het ook mogelijk is, dat de afsterving in dit gebied zóó plotseling geschiedt, dat voor vormverandering of

TABEL IV.

Aantal cellagen en dikte van verschillende weefsels in stengels van ± gelijke diameter, respectievelijk van een gezonde plant en van planten gekweekt zonder borium in glaszand (pot 75) en in watercultuur

[*Number of cell rows and thickness of different tissues in stems with about the same diameter from a healthy plant and from plants, grown without boron, in glass-sand and in water culture*]

Verschillende weefsels *different tissues*	gezond gem. stengeldiam. 6000 mu (*healthy* *average diameter of stem 6000 mu*)		geen B., glaszandcultuur gem. stengeldiam. 6500 mu (*no boron, glass-sand culture* *average diameter of stem 6500 mu*)		geen B., watercultuur gem. stengeldiam. 6350 mu (*no boron, water culture* *average diameter of stem 6350 mu*)	
	aantal cellagen (*number of cell rows*)	gem. dikte in mu's (*average thickness in mu's*)	aantal cellagen (*number of cell rows*)	gem. dikte in mu's (*average thickness in mu's*)	aantal cellagen (*number of cell rows*)	gem. dikte in mu's (*average thickness in mu's*)
Epidermis	1	35	1	25	1	35
Collenchym [*Collenchyma*]	4–7	110	4–5	78	5–6	160
Schorspar + collenchym [*Cortex parenchyma + collenchyma*]	12–17	550	16–19	525	15–16	935
Endodermis	1	40	1	35	1	35
Pericykel [*Pericycle*]	2–3	50	3–5	60	2–4	50
Extraxylaire phloëem [*Outer phloem*]	–	25	–	250	–	200
Xyleem [*Xylem*]	9–14	260	3–10	130	0–15	180
Merg [*Pith*]	46	4000	71	4300	42	3925
Afstand endodermis tot xyleem [*Part between endodermis and xylem*]	–	100	–	350	–	300

celvermeerdering geen tijd is. De voornaamste oorzaak van het ombuigen der bladranden en bladpunt naar beneden, waarbij het bladmoes een gebobbeld oppervlak aanneemt, zal wel gelegen zijn in de bovenvermelde talrijke deelingen in radiaire richting, die kunnen optreden in cambium en phloëem. Deze weefsels, die aan de onderzijde van de nerven gelegen zijn (fig. 11) kunnen niet voldoende in de lengte groeien.

2. Bladmoes (fig. 10)

Reeds tijdens de groei werd bij planten, die aan boriumgebrek lijden opgemerkt, dat de bladschijf een gebobbeld oppervlak vertoont, chlorotische gebieden tusschen de nerven krijgt en dikker aanvoelt. Bij een gezonde plant neemt de dikte van het bladmoes naar de bladrand en naar de top van de plant af. Vergelijkende metingen zijn verricht bij normale planten en zieke, afkomstig van waterculturen, op ongeveer dezelfde afstand van de hoofdnerf, ongeveer in het midden van de bladschijf, welke gegevens verzameld zijn in *tabel V*.

Tabel V.

Gemiddelde dikte van het bladmoes van bladeren, respectievelijk afkomstig van vijf gezonde planten en van vijf planten, gekweekt zonder B., op verschillende hoogte van de plant, ongeveer in het midden van het blad, in μ's

[*Average thickness of the mesophyll of leaves from five healthy plants and from five plants, grown without boron, at different heigtht of the plant, at about the centre of the leaf, in μ's*]

	gezond blad (*healthy leaf*)			borium gebrek (*lack of boron*)		
	laagste blad (*lowest leaf*)	op halve hoogte (*at half height*)	top blad (*top leaf*)	laagste blad (*lowest leaf*)	op halve hoogte (*at half height*)	top blad (*top leaf*)
	228	195	117	385	237	215
	211	182	125	370	260	256
	228	208	117	305	260	240
	207	195	143	358	265	286
	214	195	130	507	285	299
Gem. ... [*Average*]	218	195	126	385	269	259

Microscopisch kon dus worden vastgesteld, dat de dikte van het bladmoes bij planten, die lijden aan boriumgebrek toeneemt en in vergevorderd ziektestadium meer dan het dubbele kan bedragen van een gezond, evenoud blad.

De *diktetoename* van het bladmoes bleek, vergeleken bij gezond materiaal, voor de laagste bladen gemiddeld te zijn: 167μ,

voor de bladen op de halve hoogte van de plant: 74μ en voor de topbladen: 133μ. *De diktetoename is dus het sterkst bij de bladen aan de voet en aan de top, het minst bij de bladeren ter halve hoogte van de plant.* Relatief zijn de topbladen sterker in dikte toegenomen dan de bladen aan de voet en deze laatste weer sterker dan de bladeren op de halve hoogte van de plant. De diktetoename berust op toename in *grootte* der afzonderlijke cellen, terwijl het *aantal* cellen vrijwel constant blijft.

In een gezond blad zijn de epidermiscellen gemiddeld 32μ breed en 30–100μ lang, in een door boriumgebrek sterk aangetast blad gemiddeld 52μ breed en 65–120μ lang. De palissadeparenchymcellen zijn in een gezond blad gem. 18μ breed en gem. 65μ lang. In sterk aangetaste bladeren daarentegen kan de breedte tot 65μ en de lengte tot 260μ toenemen. Ook de sponsparenchymcellen kunnen aanmerkelijk grooter zijn. *Eveneens kunnen de kernen der cellen in het zieke bladmoes in grootte toenemen* (behandeld met lactophenol volgens Lepik (1928) p. 870): in gezond weefsel bedraagt de diameter 6–8 μ, in ziek weefsel 6–14 μ. *Het aantal chlorophylkorrels neemt in het zieke weefsel, naarmate de cellen grooter worden, toe.* De chlorose wordt verklaard doordat 1e de korrels wegens hun geringe afmeting minder chlorophyl bevatten dan die in gezonde bladeren en 2e het percentage chlorophyl, in verband met sterke toename in grootte der afzonderlijke cellen, achteruit is gegaan. In *tabel VI* zijn enkele gegevens verzameld over het aantal chlorophylkorrels in palissade-parenchymcellen van gezond en ziek weefsel, terwijl tevens lengte en breedte dezer cellen er bij zijn vermeld.

Tabel VI.

Een vergelijking tusschen gezonde en zieke bladeren wat betreft lengte en breedte der pallissade-parenchymcellen en aantal chlorophylkorrels

[*A comparison between healthy and diseased leaves concerning length and breadth of the palisade-parenchyma-cells and the number of chloroplasts*]

	gezond (*healthy*)			geen borium (*lack of boron*)		
	lengte in mu's (*length in mu's*)	breedte in mu's (*breadth in mu's*)	aantal chlorophyl-korrels (*number of chloroplasts*)	lengte in mu's (*length in mu's*)	breedte in mu's (*breadth in mu's*)	aantal chlorophyl-korrels (*number of chloroplasts*)
	62,4	19,5	55	89,9	21,1	135
	62,1	17,6	63	90,1	28,9	165
	70,2	17,6	51	168,0	41,2	160
	66,3	17,6	57	187,2	20,8	131
	66,3	19,5	53	155,4	27,3	157
	70,2	17,6	65	160,6	23,4	151
	68,3	19,5	59	163,8	25,2	163
	65,2	19,5	67	175,0	35,0	192
Gem. ... [*Average*]	66,4	18,6	59	148,8	27,9	157

De diameter der chlorophylkorrels, welke geteld werden, bedroeg in het sterk zieke weefsel 1–4 μ, in het gezonde weefsel 1–6 μ.

Nemen we aan, dat de chlorophylkorrels bolvormig zijn, dat de gemiddelde diamter der chlorophylkorrels in het zieke weefsel gelijk is aan $\frac{1+4}{2} = 2{,}5\ \mu$ en die van het gezonde weefsel $\frac{1+6}{2} = 3{,}5\ \mu$, dan is de gemiddelde inhoud van de eerste korrels: 8,17 μ^3 en van de laatste: 22,46 μ^3. Nemen we verder aan, dat de palissadeparenchymcellen cylindervormig zijn, dan is de gemiddelde inhoud van de cellen, die vermeld zijn in tabel VI voor het zieke weefsel: 91006,08 μ^3 en voor het gezonde weefsel: 18049,23 μ^3.

De totale inhoud der chlorophylkorrels wordt voor de zieke cel: 1282,69 μ^3, d.i. 1,4% en voor de gezonde cel: 1325,14 μ^3, d.i. 7,3 % van de celinhoud. In het laatste geval is het percentage dus ruim 5× zoo groot als in het eerste geval, al is het totaal aantal chlorophylkorrels in het laatste geval veel geringer. Uit deze berekening blijkt ook, dat de *absolute hoeveelheid* chlorophyl in de zieke planten eerder af- dan toegenomen is.

Bij het afstervingsproces aan de bladranden worden zoowel *palissade-* en *schorsparenchymcellen* als *epidermiscellen* aangetast, op dezelfde wijze als beschreven is voor de parenchymcellen in wortel en stengel.

Het is nog niet met zekerheid uitgemaakt, of de stoornissen, die in het bladmoes optreden wel geheel zijn te wijten aan de belemmerde afvoer der koolhydraten en eiwitten. Er moet ook rekening gehouden worden met de mogelijkheid, dat zij ten deele een direct gevolg zijn van het plaatselijk boriumtekort. Hiervoor pleit de waarneming, dat chlorotische verschijnselen reeds kunnen optreden nog vóórdat het vegetatiepunt en de okselknoppen afgestorven zijn. Met zekerheid is dit intusschen moeilijk uit te maken, daar het denkbaar is, dat nog vóór het optreden van zichtbare, inwendige symptomen in de groeiende deelen, de groei op deze plaatsen reeds zóódanig geremd kan zijn, dat de in de bladeren gevormde koolhydraten en eiwitten niet in voldoende mate verwerkt kunnen worden. Het waarschijnlijkst lijkt mij, dat stoornissen in het bladmoesgedeelte als direct gevolg van een plaatselijk boriumtekort zéér goed kunnen optreden naast stoornissen, die een gevolg zijn van de slechte afvoer der koolhydraten en eiwitten. Hierbij zullen waarschijnlijk meer organische zuren gevormd worden, dan onder normale omstandigheden en de vergiftiging, die daarvan het gevolg moet zijn, zou de ziekelijke bouw en de abnormale functie van kernen, chlorophyl en plasma kunnen verklaren.

5. BESCHOUWING

Wanneer we de resultaten van de watercultuur met die van de glaszandcultuur vergelijken, dan wordt het duidelijk, dat het ziektetype zich zal wijzigen, naarmate het boriumgebrek zich vroeger of later, plotseling, of meer geleidelijk in het leven van de plant doet gelden.

In het onbehandelde glaszand moeten nog sporen borium aanwezig geweest zijn, daar de hierin gekweekte planten veel grooter werden dan die, welke gekweekt werden in het met zoutzuur behandelde glaszand, waarbij eveneens geen boorzuur was toegediend. Het ziektebeeld verkregen bij de plant in pot 75 zal wel het meest beantwoorden aan boriumgebrek in de praktijk, daar het niet te verwachten is, dat er gronden zijn, die *absoluut* vrij zijn van borium.

We kunnen ons voorstellen, dat de plant onder bepaalde omstandigheden juist genoeg borium uit de grond kan halen voor een vrijwel normale ontwikkeling en dat b.v. bij plotseling invallende droogte de boriumtoevoer naar de wortels te gering wordt, zoodat de ziekte zich kort daarna zal openbaren. Dit zal mogelijk zijn bij planten van verschillende leeftijd, daar op deze gronden, onder de bovenvermelde groeiomstandigheden niet veel, of in het geheel geen reserveborium kan zijn opgenomen. Het ziektebeeld, verkregen bij de plant van pot 75 (waarbij het topgedeelte zich kromde), komt sterk overeen met de beschrijving die KUYPER geeft van de in Deli voorkomende „topziekte", *met dit verschil, dat de top niet afgeworpen werd*, hetgeen gelegen kan hebben aan de omstandigheden, die in de kas heerschten, nl. het ontbreken van regen en wind.

JOCHEMS zegt (p. 34): „Dit afsterven van het vegetatiepunt gaat *meestal* met een eenzijdigen groei van den stengeltop gepaard, waardoor deze zich kromt, nog enkele bladstompjes maakt en afbreekt." Hieruit volgt, dat dit afbreken in Deli niet *steeds* plaats vindt.

Het microscopische onderzoek wees uit, dat vooral het vaatbundelgedeelte sterk aangetast kan zijn. Alle overige weefsels kunnen echter in het ziekteproces betrokken worden en plaatselijk ziekteverschijnselen vertoonen.

Het ombuigen der nerven naar beneden en het ombuigen van de stengel worden verklaard, doordat een bepaald gedeelte van de nerf en van de stengel sterk ziek is en in lengtegroei achterblijft bij de overige overeenkomstige weefsels, waarin afwijkende verschijnselen eerst later, of in het geheel niet optreden.

Bij de *gewone kroepoekziekte* en bij de *krulziekte* van de tabak,

die door THUNG (1932) beschreven zijn, zijn de nerven en de bladoppervlakte in het eerste geval onregelmatig naar de rugzijde geknikt en in het laatste geval zijn de bladeren, vooral aan de top van de plant, zeer regelmatig dorsaal gekruld, terwijl het bladmoes naar boven is opgebold. Een anatomische beschrijving van deze beide ziekten wordt gegeven door TOLLENAAR: zie THUNG (1932) en van de eerste ziekte door KERLING (1933). In een kroepoek- en krulzieke nerf zijn uitgebreide phloëemwoekeringen, ingedrukte zeefvaten en opgezwollen celwanden waar te nemen. De cellen van het phloëem en ook de parenchymatische cellen der zetmeelscheede zijn op dwarsdoorsnede niet regelmatig rond, doch uitgerekt, samengedrukt of verdraaid. De bekende kleuringen duiden niet op afsterving, zoodat TOLLENAAR er de voorkeur aan geeft te spreken van „necrobiose".

Zoowel bij tabak met boriumgebrek als bij tabak, die van een dezer beide virusziekten te lijden heeft, buigen de nerven zich naar omlaag, terwijl in alle drie gevallen woekeringen in het phloëem plaats vinden. Bij de krulziekte is de parallel met planten, die aan boriumgebrek lijden, wat betreft de wijze van ombuigen der nerven en het naar boven opbollen van het bladmoes, het verst te trekken. In beide gevallen zijn de planten gedrongen van bouw en zijn de bladeren kort; de bladverhouding breedte : lengte is grooter bij gezonde planten.

In sterk zieke bladeren kan het aantal chlorophylkorrels sterk vermeerderd zijn, hoewel de korrels kleiner zijn dan normaal, zoodat het percentage chlorophyl, de vergrooting der cellen in aanmerking genomen, achteruit gegaan is. Aangaande de functie der korrels kan worden opgemerkt, dat in zieke planten meer zetmeel en suikers worden aangetroffen dan in normale planten, waarvoor waarschijnlijk de slechte afvoer hoofdzakelijk aansprakelijk is.

Het bladmoes kan aanmerkelijk in dikte toenemen, hetgeen een gevolg is van een vergrooting der afzonderlijke mesophylcellen. Aangezien de afstand tusschen de nerven vrijwel gelijk blijft, verklaart deze toename in grootte der cellen het sterke opbollen van het bladmoes tusschen de nerven. Dit opbollen zal naar boven en niet naar beneden geschieden, daar het weefsel tusschen de nerven van nature reeds een weinig naar boven gewelfd is.

In het bladmoes kunnen de celkernen in grootte toenemen. Het feit, dat bloemen afvallen, zonder dat zaad geproduceerd wordt, pleit eveneens voor een gewijzigde constitutie der kernen. Dit afvallen der bloemen, of het uitblijven van de vorming van bloemknoppen zou echter voldoende verklaard worden door het

feit, dat bij boriumgebrek het meristematische weefsel wordt aangetast, aangezien de bloemaanleg oorspronkelijk eveneens van meristematische natuur is.

De door WARINGTON in 1927 beschreven inwendige veranderingen, welke optreden bij Vicia Faba, die zonder borium werd gekweekt, zijn in overeenstemming met de anatomische veranderingen, teweeggebracht door boriumgebrek bij tabak. Zij geeft echter geen anatomische beschrijving van de veranderingen, die in het bladmoes optreden.

Geen overeenstemming is er met een verschijnsel, beschreven door HAAS en KLOTZ (1931) bij aan borium tekort lijdende citrus; hier toch vormen zich kurklagen in het blad, die zich van de hoofdnerf uit een eindweegs over het palissadeparenchym uitbreiden. Eveneens treedt bij tabak geen gom naar buiten, zooals bij de citrus.

De veranderingen in stengel, wortel en blad kunnen ten deele verklaard worden door optreden van plaatselijk boriumtekort en gedeeltelijk door secundaire invloeden: belemmering van afvoer der assimilaten en eiwitten, met vergiftiging als gevolg en daarnaast minder rationeele opname en distributie van voor de groei noodzakelijke elementen.

6. SAMENVATTING

Boriumgebreksymptomen bij tabak zijn zoowel verkregen bij water- als bij glaszandculturen, welke beide zoowel met elkaar als met de door JOCHEMS en KUYPER beschreven topziekte van de tabak in Deli zijn vergeleken. Borium blijkt noodig te zijn gedurende de geheele vegetatieperiode. De ziekteverschijnselen kunnen op elke leeftijd van de plant worden teweeggebracht en loopen dan wat hevigheid betreft uiteen. Bij planten, die vanaf het begin geen borium ontvingen, heeft een slechte wortelontwikkeling plaats. De vegetatiepunten der jonge wortels, sterven af, waardoor andere wortels uitloopen, die na verloop van een zekere tijd meestal hetzelfde lot ondergaan. Het vegetatiepunt van de stengel kan reeds na eenige weken afsterven, spoedig gevolgd door de okselknoppen; de planten krijgen een gedrongen bouw; chlorotische gebieden ontstaan tusschen de nerven der bladeren, waarvan het bladmoes in dikte toeneemt en zich meest naar boven welft. De bladranden en bladpunten buigen zich meest naar omlaag. Bij planten, die eerst op laat stadium boriumgebrekverschijnselen krijgen, is de habitus minder sterk, of in het geheel niet gedrongen. Het vegetatiepunt en de zijknoppen kunnen afsterven, terwijl slechts de topbladeren een gewelfd

oppervlak krijgen. Eveneens kan het boriumtekort zich slechts uiten in het afvallen der bloemknoppen en het afsterven der zijknoppen, zonder dat welving of verdikking van het bladmoes plaats vindt.

De symptomen van boriumgebrek, teweeggebracht in glaszandcultuur, waarvan het zand niet behandeld was met zoutzuur, kwamen het meest overeen met de beschrijving van de topziekte, met dit verschil, dat de afgestorven top niet afviel, zooals meestal (dus niet altijd) plaats vindt in Deli. Dit afvallen van de top zou een gevolg kunnen zijn van bepaalde weersomstandigheden, die bij de proeven in de kas niet heerschten. Met de jood-proef van Sachs werd belemmering van zetmeeltransport geconstateerd.

Inwendige symptomen van boriumgebrek werden bij tabak het eerst gevonden in de initialen en in het procambium van de jonge wortels en vervolgens in de procambiale zône van het vegetatiepunt van de stengel. Zoowel in de wortels als in de stengel schrijdt het ziekteproces voort. Wanneer het wortelstelsel geheel is aangetast, is het topgedeelte van de plant geheel afgestorven en zijn de okselknoppen gedeeltelijk uitgeloopen, voor zoover er plaatselijk reserveborium aanwezig is. Bij het afsterven der okselknoppen treden in de knoopen van de stengel degeneratieverschijnselen op. De nodiën in het topgedeelte vertoonen eerder ziekteverschijnselen dan de laagstgeplaatste nodiën. Het weefsel tusschen de nodiën hoeft dan nog niet aangetast te zijn. Degeneratie van het weefsel tusschen de nodiën van het uiterste topgedeelte kan reeds plaats hebben, terwijl de symptomen aan de voet van de plant nog slechts zwak in de knoopen te vinden zijn.

Vooral de veranderingen in cambium en phloëem zijn karakteristiek. Het phloëem deelt zich sterk in radiaire richting; de afzonderlijke cellen zijn hierbij vaak niet meer te herkennen. Het xyleem ontwikkelt zich veel minder goed dan in gezonde planten, hetgeen tot uiting komt in minder elementen en een geringere wanddikte, terwijl bepaalde gedeelten afgestorven kunnen zijn.

De aantasting der cellen begint steeds met een bruinkleuring der wanden, vaak in een hoekpunt, waar vier cellen bij elkaar komen. In deze wanden treden blijkbaar soms bepaalde spanningen op, daar de cellen samengedrukt en uitgerekt kunnen worden. De celinhoud kan afsterven en eveneens bruin gekleurd worden.

Alle cellen kunnen in het ziekteproces betrokken worden. Cellen met kristalgruis van Ca-oxalaat kunnen talrijker zijn dan in gezonde planten, vooral in de buurt van de meristematische deelen, een bewijs voor de vorming van abnormaal veel oxaalzuur.

Wanneer de okselknoppen afsterven, treden symptomen op in het vaatbundelgedeelte bij de voet van de hoofdnerf, zoodat de

afvoer van de assimilaten en eiwitten belemmerd en vervolgens wordt stopgezet. Verdere groei van de plant is dan uitgesloten.

Ziek weefsel is ten slotte tot in de fijnste nerven te vinden. Het bladmoes wordt dikker door een vergrooting der afzonderlijke mesophylcellen. Dit verklaart het sterke opbollen van het weefsel tusschen de nerven.

In sterk zieke bladeren kan het aantal chlorophylkorrels aanmerkelijk toegenomen zijn. De grootte der korrels is echter afgenomen. De totale hoeveelheid chlorophyl is daardoor verminderd.

In het sterk chlorotische weefsel is de gemiddelde diameter der celkernen toegenomen.

Een verklaring wordt gegeven voor de eenzijdige stengelgroei en voor het naar beneden ombuigen der nerven.

7. SUMMARY

Symptoms due to boron deficiency in tobacco plants, grown in culture solutions have been described by Mc Murtrey (1929, 1933) and by Mes (1930). In Deli (*Sumatra*, Netherland-East-India), „Topziekte" of tobacco is prevented by applying a dose of 6 mg boric acid, dissolved in 0,5 litre of water per plant (Meurs, 1932). In spite of this it is not supposed in Deli that „Topziekte" is due to boron deficiency, for the symptoms of this disease there do not agree in all respects with those resulting from boron deficiency as seen in tobacco plants, grown in culture solution (Kuyper, 1930). In the disease as seen in Deli the dead top often drops, while the upper part of the stem bends to one side. In order to study this problem more fully, the author carried out experiments in an endeavour:

1. to produce symptoms of boron deficiency in tobacco,
   a. in water culture,
   b. in sand culture (in which succes had not previously been attained).
2. to compare the symptoms exhibited by plants grown in *a* and *b* with one another and with those of „topziekte".
3. to give a description of the anatomical changes induced by boron deficiency in tobacco grown in water and sand cultures.

„Rhenen" was the variety of tobacco employed. Seed was germinated in pure glass-sand (from the glass-factory „Leerdam", Holland) to which certain pure salts (from the firm „Schering-Kahlbaum, A. G. Berlin") were added, but no boron. After six weeks the plants were transferred to the culture solutions in glass jam jars, each containing about 600 cc of solution. The inside of each jar and lid was paraffined, and the outside was first painted black and then white. Distilled water and pure salts were used. The plants were secured with cotton-wool in the hole of a cork, which was inserted in the lid.

The following nutrient solution, lacking boron was used:

KNO_3	1.00	grams
$MgSO_4\ 7H_2O$	0.50	,,
$CaSO_4\ 2H_2O$	0.50	,,
$Fe_3\ (PO_4)_2\ 8H_2O$	0.25	,,
$Ca(H_2PO_4)_2\ 2H_2O$	0.611	,,
$MnSO_4\ 4H_2O$	0.25	,,
$Al2(SO_4)_3$	0.0015	,,
$CuSO_4\ 5H_2O$	0.000125	,,
KJ	0.00025	,,
KF	0.00025	,,
$ZnSO_4\ 7H_2O$	0.0005	,,
Distilled water	1 litre	

The controls were grown with 0.0005 g H_3BO_3 per litre. The pots used for the sand cultures had a glazed inner wall and contained 7 kilog. glass-sand. Some of the pots were filled with sand that had been washed for 24 hours with concentrated HCl and then with tap-water for at least 12 hours; the other pots were filled with sand not treated with HCl.

To the pots lacking boron the following salts were added:

KNO_3	2.00	grams
$MgSO_4\ 7H_2O$	1.00	,,
$CaSO_4\ 2H_2O$	1.05	,,
$Ca(H_2PO_4)_2\ 2H_2O$	1.222	,,
$Fe3\ (PO_4)_2\ 8H_2O$	0.50	,,
$MnSO_4\ 4H_2O$	0.0015	,,
$Al_2(SO_4)_3$	0.0005	,,
$CuSO_4\ 5H_2O$	0.000125	,,
KJ	0.00025	,,
KF	0.00025	,,
$ZnSO_4\ 7H_2O$	0.0005	,,

To the control-pots 0.0005 gram H_3BO_3 was added. The sand was kept moist with distilled water. The experiment was made under green house conditions, the water cultures started on May 4th and the sand cultures on May 23rd, the latter with seedlings two months old.

Perfectly healthy plants were obtained where boron was added. Exactly the same symptoms of boron deficiency as those described by Mc Murtrey and Mes were produced in tobacco grown without boron in water cultures (fig. 1) and in sand cultures in which the sand had been treated with HCl (fig. 5, 1).

Plants grown without boron have feeble root-systems. Many of the root tips develop a brown or black colour, then die prematurely, thus stimulating the development of secondary rootlets; they cease to develop soon after emergence, or may even fail to penetrate the cortex; a stunted appearance of the rootsystem is thus caused. In an advanced stage of boron deficiency the roots are coloured brown and the older ones have a brittle exodermis. The growing point of the stem may die after a few weeks, this being shortly followed by the death of the axillary buds. Chlorotic areas develop between leaf veins, often leaving a band of green tissue on both sides of the veins. Diseased leaves often have a wrinkled appearance, with downward-curled tips and margins, whilst the mesophyll between

the veins protrudes convexly upwards. The lamina thickens gradually. The main and lateral veins are frequently bent downward. Brown discoloration of the tissue in the vascular region can often be observed with the naked eye. The plants are stunted, the internodes remaining short. When healthy older plants were transferred to a medium lacking boron, slight or no stunting resulted. The growing point and the axillary buds may die, whilst only the upper leaves acquire a wrinkled appearance. It is possible that symptoms of boron deficiency become apparent only as a dropping of the flower buds (or blossom) followed by the death of the axillary buds, *without* any wrinkling or thickening of the leaf lamina. Hence it is possible to modify the intensity of the symptoms, and it is clear that plants require boron during their whole life-period; for deficiency symptoms could be induced at each stage of growth.

The symptoms of boron deficiency exhibited by the plants in sand cultures agreed for the most part with those of „Topziekte" of Deli tobacco, when the sand was *not* treated with HCl (fig. 4). Apparently the glass-sand contained some traces of boron, for the plants made better growth in untreated sand than in that treated with HCl (fig. 2 and 5 no 1).

Fig. 4 illustrates a plant grown without boron in sand not treated with HCl. It has a dead top, and *the upper end of the stem has grown to one side*, as is described for „Topziekte". The only differance is that the top has not fallen off, as generally (but not always) occurs with „Topziekte". Possibly with „Topziekte", definite weather conditions (rain and wind) are the cause of this falling off of the top, conditions that do not prevail in the greenhouse.

In plants suffering from boron deficiency the translocation of starch is impeded (fig. 3).

Internal symptoms of boron deficiency were found first in the *apical cells* and in the *procambium* at the growing points of the roots and afterwards in the *procambium* and *cambium* at the growing point of the stem. They manifested themselves as a brown discoloration and a breaking down of individual cells or cellcomplexes. When the whole root-system is diseased the top of the plant has already died; the axillary buds will continue to develop until the boron supply is exhausted, and then these buds will die, beginning at the growing point. The symptoms gradually extend to the base of the buds, to the nodes of the stem and to the vascular tissue of the main vein of the leaf. The nodes of the upper part of the stem show the symptoms earlier than the lowermost-nodes. After the dying of the axillary buds the tissue at the modes is attacked first and afterwards that of the internodes. Degeneration of the tissue between the nodes of the upper part of the stem may occur while symptoms in the nodes at the base of the stem are still slight or absent.

The *phloem* enlarges enormously (Table III and IV), numerous radial divisions taking place; often it is impossible to recognize the individual cells, many of them being irregularly distorted or compressed and broken down.

The *xylem* is generally poorly developed (Table III and IV) and contains disintegrated cells. In roots, stems and leaves distortion of the tissue takes place in the young regions. Generally, the cells of diseased xylem-tissue are smaller and have thinner walls as compared with those of healthy tissue.

In the main it is the stelar structure that is affected, but the *cortex* may also be involved. Individual cells or cell-complexes of the *ground-*

parenchyma may be affected. Brown discoloration of cell walls is presumably the initial stage in the disintegrating process, which often begins at the points of junction of the cells. Frequently cells are found having only one or two joint brown walls. Presumably definite stresses occur in the diseased cell-walls, many of the latter being distorted or compressed. In disintegrated cells the protoplasm and nucleus may be discoloured. Sometimes in a cell with healthy looking walls the nucleus alone is coloured brown. Abnormal functioning of other cells in the neighbourhood is believed to be the cause of this.

Epidermal- or *exodermal-*, *collenchyma-*, *endodermal-* and *pericycle-cells* may also be disintegrated in the same manner as is described for the parenchyma-cells.

Many cells containing crystals of calcium oxalate may be found, presumably as a result of an excess of oxalic acid in the diseased plants.

When the stelar structure in the stem is affected locally, the diseased cells in this region cannot elongate as well as the cells in the apparently healthy region. Hence it is comprehensible that the end of the stem may grow one-sided and will become bent. In the same way the curvature of the veins is to be explained; the phloem, which is chiefly situated on the underside of the veins, may be attacked severely, resulting in less growth in length in this region than in the upper tissue of the veins. (This process is compared with the bending of the veins in the Curl and Crinckle diseases of tobacco (Thung, 1932 and Kerling, 1933) in which cases also an abnormal extension of the phloem takes place.)

The thickening of the lamina (Table V) is explained by the enlargement of the individual cells (Table VI). In the diseased enlarged cells the number of the chloroplasts may be increased (Table VI), but they are smaller than in healthy tissue. Thus the chlorophyll content of the cells may be diminished considerably, and the chlorotic areas of the leaf are explained. With regard to the function of the chloroplasts it can be said that in diseased plants more starch and sugars are found than in healthy plants, the prevention of transport of sugars through the diseased phloem presumably being the principal cause of this.

The *nucleus* may enlarge in the diseased mesophyll cells.

When the tips and margins of the leaf die, disintegrating of *epidermal-*, *palisade-* and *spongy-parenchyma-cells* takes place in the same way as is described for the parenchyma-cells in the stem.

The changes occurring in root, stem and leaf may be explained partly by local deficiency of boron and partly by secondary factors: such as prevention of the transport of sugars and proteins, resulting in a poisoning of the plant, and, further, in impaired absorption and distribution of the elements necessary for normal growth.

Laboratorium voor Mycologie en Aardappelonderzoek.

Wageningen, Holland, December 1933.

8. VERKLARING DER PLATEN

Description of Figures

PLAAT VI

Fig. 1. Rhenensche tabak, gekweekt in watercultuur zonder borium van 4 Mei tot 14 Juni. De welving van het bladoppervlak en de verschijnselen van chlorose zijn duidelijk waar te nemen. De topbladen zijn minder chlorotisch dan de voetbladen.

Rhenen tobacco, grown in waterculture without boron from 4th May to 14th June. The protruding upward of the mesophyll and the phenomenon of chlorosis are clearly visible. The upper leaves are less chlorotic than those at the base.

Fig. 2. Begin van boriumgebrekverschijnselen bij een tabaksplant, die gekweekt werd in glaszand, dat met geconcentreerd HCl behandeld was. De bobbeling van het bladmoesgedeelte is vooral in de topbladen duidelijk te zien, terwijl het vegetatiepunt begint af te sterven. De cultuur begon 23 Mei. De foto, die genomen werd op 10 Juli stelt de plant voor uit pot (71).

Beginning of symptoms of boron deficiency of a tobacco plant grown in sand treated with HCl. The wrinkling of the mesophyll is especially conspicious in the top leaves; at the same time the growing point is beginning to die. The culture started on 23rd May. The photo was taken on 10th July.

Fig. 3. Belemmering van zetmeeltransport, als gevolg van boriumgebrek in een tabaksblad, waarvan de plant gedurende 16 uur in het donker was geplaatst. Behandeld met J. J. K. volgens Sachs.

Prevention of translocation of starch as a result of lack of boron in a tobacco leaf from a plant placed in the dark for 16 hours. Treated according to Sachs' method.

PLAAT VII

Fig. 4. Rhenensche tabak, gekweekt vanaf 23 Mei tot 7 Augustus in pot (75), in glaszand, dat niet behandeld was met zoutzuur, zonder borium. Let op het omgebogen topgedeelte! Het vegetatiepunt is geheel afgestorven. De chlorose is het meest uitgesproken op de onderste bladeren. De nerven steken donker af tegen het bladmoes, hetgeen vooral bij de bladeren op tweederde van de hoogte goed is waar te nemen.

Rhenen tobacco, grown from 23rd May to 7th August in a pot with sand not treated with HCl, and without boron. The top is bent. The growing point is dead. Chlorosis is most pronounced in the lower leaves, the veins contrasting distinctly with the mesophyll, the leaves at $^2/_3$ of the height showing this very pronouncedly.

Fig. 5. Van links naar rechts:
1. Rhenensche tabak, gekweekt zonder borium vanaf 23 Mei tot 7 Augustus in glaszand, dat behandeld was met geconcenteerd HCl. De plant heeft zich nauwelijks ontwikkeld. Het topgedeelte is afgestorven, terwijl enkele bladeren een afgestorven bladrand hebben.
2. Pot (75): een plant gekweekt zonder borium in glaszand, dat niet behandeld was met zoutzuur, met typische gebreksymptomen.
3. Een plant, die dezelfde bemesting kreeg als die van pot (75), eveneens gekweekt in glaszand, dat niet behandeld was met HCl, maar zonder typische boriumgebrekverschijnselen. De plant bleef echter klein.
4. Een plant, die behalve de bemesting van pot (75) nog 0.0005 gr boorzuur erbij kreeg.

From left to right:
1. *Rhenen tobacco, grown without boron from 23rd May to 7th August in sand treated with concentrated HCl. The plant has hardly developed. The growing point has died and some leaves have a dead margin.*
2. *A plant grown without boron in sand not treated with HCl showing typical symptoms of boron deficiency. (The plant of fig. 4).*
3. *A plant treated similarly to that of fig. 5 (no 2) showing no typical symptoms of boron deficiency. The plant remained only short.*
4. *A plant having received 0.0005 g boric acid in addition to the treatment of that in 2.*

Plaat VIII

Fig. 6. Vegetatiepunt van jonge wortel op lengtedoorsnede, afkomstig van de plant uit pot (75), met duidelijke ziekteverschijnselen: afsterving van het *meristematische weefsel* en van *schorsparenchymcellen*. Talrijke cellen zijn opgevuld met kristalgruis van *calcium*-oxalaat.

Longitudinal section of plant shown in fig. 5 (no 2) with distinct symptoms: dying of the meristematic tissue and of the ground parenchyma. Numerous cells are filled with crystals of Ca-oxalate.

Fig. 7. Dwarse doorsnede van een oudere wortel, afkomstig van een plant gekweekt in watercultuur zonder borium. In alle weefsels zijn aangetaste cellen te vinden. Het gedeelte tusschen endodermis en xyleem is sterk in radiaire richting verbreed. Het *xyleem* heeft zich naar verhouding tot de overige weefsels zwak ontwikkeld. De bruingekleurde *exodermiscellen* vallen eveneens op.

Transverse section of an old root of a plant grown in waterculture without boron. Disintegrated cells are to be found in all tissues. The part between endodermis and xylem has enlarged enormously, numerous radial divisions taking place. The xylem is poorly developed in comparison with the other tissues.

Fig. 8. Dwarse doorsnede van de stengel van de plant uit pot (75) op $^2/_3$ van de hoogte. Het *cambium* is afgestorven. Het *phloëem* is sterk in radiaire richting (hier wigvormig) uitgerekt. Het *primaire phloëem* is voor het grootste deel afgestorven en samengedrukt tegen het *pericambium*, waarvan eveneens vele cellen afgestorven zijn. Aangetaste cellen treft men ook aan in het *houtgedeelte*, het *collenchym* en in de *epidermis*.

Transverse section of the stem of the plant shown in fig. 5 (no 2). at $^2/_3$ of the height. The cambium has died. The phloem is strongly extended radially (here wedge-shaped). The primary phloem has died for the greater part, and is compressed against the pericycle, many cells of which have also died. Diseased cells are also found in the xylem, in het collenchyma and in the epidermis.

Fig. 9. Overlangsche doorsnede van de stengel van de plant van fig. 4 op vrijwel dezelfde plaats als de coupe van fig. 8.

Longitudinal section of the stem of the plant shown in fig. 4 at about the same place as the section in fig. 8.

Fig. 10. Twee doorsneden van bladeren, resp. afkomstig van een plant, gekweekt zonder borium en van een gezonde plant. Tengevolge van het tekort aan borium is de dikte van het blad aanmerkelijk toegenomen.

Two sections of leaves; one of a plant grown without boron and one of a normal one. As a result of boron deficiency the lamina has thickened considerably.

Fig. 11. Dwarse doorsnede van een bladnerf, afkomstig van een plant die in watercultuur gekweekt werd zonder B. De aantasting is vooral hevig in het *phloëemgebied* aan de onderkant van de nerf. Zieke cellen vindt men tevens in *xyleem*, *schorsparenchym*, *pericambium* en *endodermis*.

Transverse section of a vein from a plant grown in water culture without boron. The phloem on the underside of the vein in particular is badly diseased. Diseased cells are also found in the xylem, in the parenchyma of the cortex, in the pericycle- and endodermal-cells.

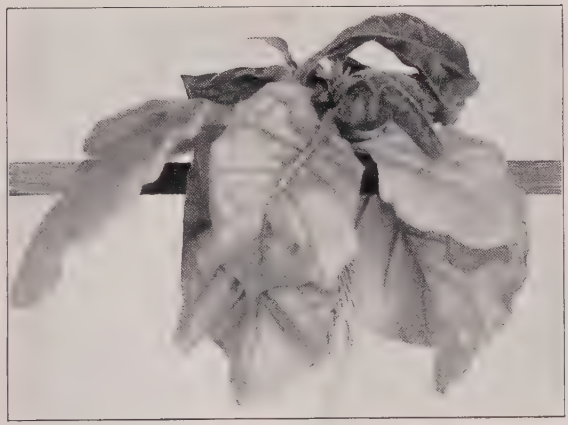

Fig. 1

Fig. 3

Fig. 2

Foto: J. v. d. Peppel

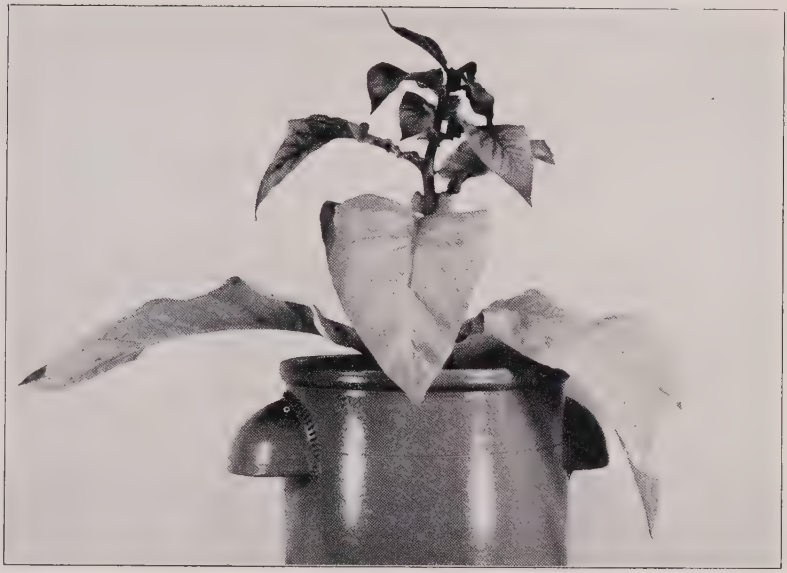

Fig. 4

1 2 3 4

Fig. 5

Foto: J. v. d. Peppel

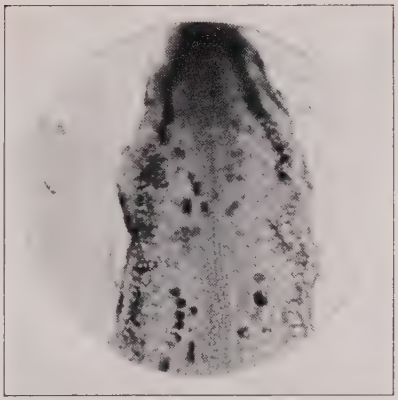

Fig. 6

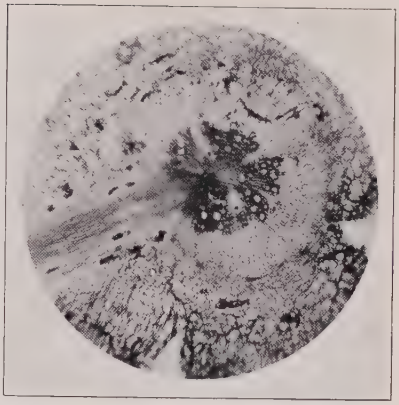

Fig. 7

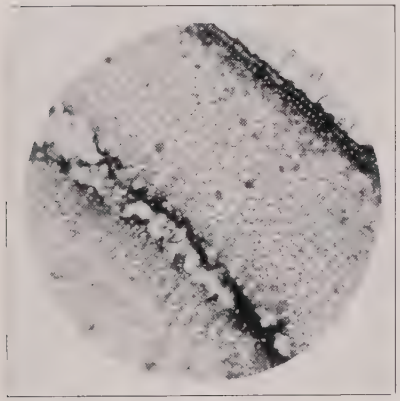

Fig. 8

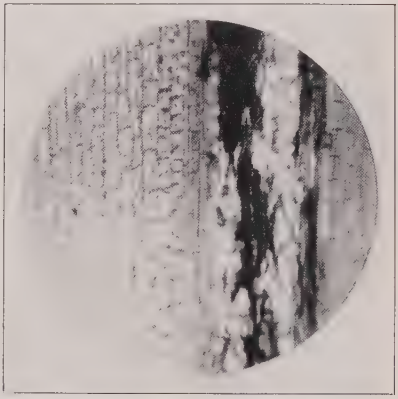

Fig. 9

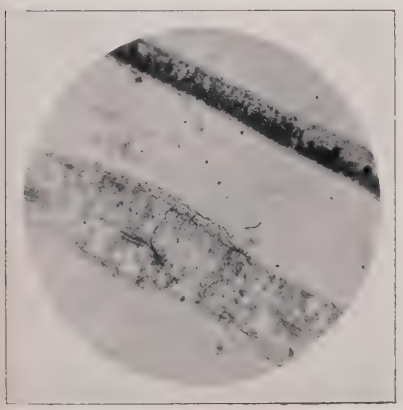

Fig. 10

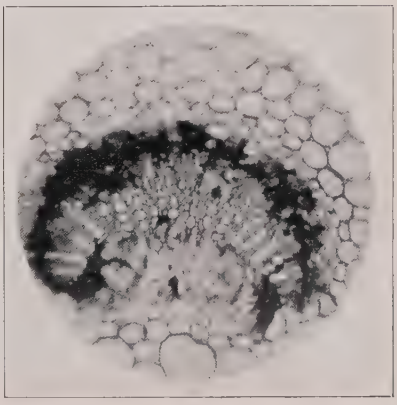

Fig. 11

Foto: J. Boekhorst

SAWYER

9. LITERATUUR

BAUMERT, G., Beiträge zur Kenntniss der californischen Weine. Landw. Vers. Stat., Bd. 33, p. 39—88, 1887.

HAAS, A. R. C., and KLOTZ, L. J., Some anatomical and physiological changes in Citrus, produced by boron deficiency. Hilgardia, Vol. 5, no 8, 1931.

HOTTER, E., Ueber das Vorkommen des Bors im Pflanzenreich und dessen physiologische Bedeutung. Landw. Vers. Stat., Bd. 37, p. 437, 1890.

JENSEN, HJ., Ziekten van de tabak in de Vorstenlanden, 1920.

JOCHEMS, D. C. J., Handleiding voor de herkenning en bestrijding van de ziekten van Delitabak. Med. Deli Proefst. Serie II, XLIII, p. 1—39, 1926.

KERLING, L. C. P., The anatomy of the „Kroepoek-diseased" leaf of tabacum and of Zinnia elegans. Phytopath., 23, no 2, p. 175—190, 1933.

KUYPER, J., Boorzuur tegen de topziekte van de tabak. Deli Proefst. Medan, Vlugschrift no 50, 1930.

LEPIK, E., Differential staining of Peronosporaceae. Phytopath., Vol. 18, p. 869—875, 1928.

MC. MURTREY, J. E , The effect of boron deficiency on the growth of tobacco plants in aerated and unaerated solutions. Journ. Agr. Res. Vol. 38, p. 371—380, 1929.

———, Distinctive effects of the deficiency of certain essential elements on the growth of tobacco plants in solution cultures. U.S. Dept. Agric. Tech. Bull. 340, p. 1—42, 1933.

MES, M. G., Fisiologiese Siektesimptome van tabak. Proefschrift, Baarn, Holland, 1930.

MEURS, A., Bestrijden en voorkomen van topziekte. Deli Proefst., Medan. Vlugschrift no 59, 1932.

SWANBACK, T. R., The effect of boric acid on the growth of tobacco plants in nutrient solution. Plant Physiol., Vol. 2, p. 475—486, 1927.

THUNG, T. H., De krul- en kroepoekziekte van tabak en de oorzaken van hare verbreiding (with summary: The curl- and crincle-diseases of tobacco and the causes of their dissemination). Proefst. van Vorstenlandsche tabak, Med. no 72, p. 1—53, 1932.

WARINGTON, K., The Changes induced in the anatomical Structure of Vicia faba by the absence of Boron from the Nutrient Solucion. Ann. Bot., Vol. 40, p. 27—42, 1927.

DE BISAMRAT NADERT ONZE GRENS

DOOR

N. VAN POETEREN

Reeds verscheidene jaren volgen wij de gegevens, die gepubliceerd worden over de verbreiding van de bisamrat in Duitschland met groote belangstelling, omdat deze knager en woeler in ons land een zeer ongaarne geziene gast zou zijn. Tot nu toe konden wij dit doen met belangstelling, omdat de afstand tusschen de grens van het verspreidingsgebied en de grenzen van ons land zoo groot was, dat van een rechtstreeksch gevaar voor ons geen sprake was. Die belangstelling is bij ons, die door onzen werkkring zoo rechtstreeks met de consequenties, welke aan de aanwezigheid van bisamratten onmiddellijk verbonden zijn, te maken hebben, steeds gemengd geweest met eenige vrees, doordat deze consequenties van ernstigen aard zijn. Die vrees was echter tot nu toe niet groot, in verband met den grooten afstand, die ons land nog van het verspreidingsgebied scheidde, maar werd toch steeds gevoed door de praktisch volkomen zekerheid, dat wij te eeniger tijd de bisamrat in ons land zouden zien verschijnen. Want het is beslist onmogelijk, dit dier binnen de grenzen van zijn verspreidingsgebied te houden, zoolang dit niet het geheele laagvlaktegebied van Noordwest- en West-Europa omvat.

Met ernst en vasthoudendheid heeft men in Duitschland beproefd, de grens van het verspreidingsgebied van de bisamrat te handhaven en wij kunnen niet genoeg dankbaar zijn voor al het werk, dat hiervoor gedaan is. Want ongetwijfeld heeft het zeer remmend gewerkt op de verspreiding van den gevreesden knager en eenige jaren heeft het werkelijk geleken, alsof die vertraging zoo groot was, dat zij praktisch met stilstand overeenkwam. Zeer zeker is de verspreiding van de bisamrat in Duitschland, na de stormachtige invasie vanuit het voormalige Bohemen, die noopte tot krachtige maatregelen van verweer en het zich inwerken in de techniek van het vangen van de ratten, een aantal jaren langzaam gegaan en kregen wij eenigszins den indruk dat het wellicht mogelijk zou zijn, dat een zekere evenwichtstoestand bereikt zou zijn, voordat er nog sprake van was, dat het gevaar zich tot onze grens zou hebben uitgebreid. In elk geval leek de toename van het besmette gebied aldaar heel anders dan

in Engeland, waar de bisamrat zich in weinige jaren over een zeer groot gebied verbreid heeft.

Vanwege den Plantenziektenkundigen Dienst zijn tot nu toe twee berichten gepubliceerd over de bisamrat, nl in Febr. 1928 en Juli 1929. Aanleiding tot het eerste was een alarmeerend bericht in de bladen over groote schade, die door bisamratten zou zijn aangericht in de Rijnstreek, wat echter bij onderzoek niet juist bleek te zijn. In 1929 kon medegedeeld worden, dat de toestand weinig gewijzigd was.

Dit is nu vijf jaar geleden. Wat het eigenlijke besmette gebied betreft, is de toestand nog niet ernstig gewijzigd, hoewel er wel degelijk uitbreiding is in het stroomgebied van de Elbe en in dat van de Main. In het eigenlijke Rijngebied waren nog geen ratten gevangen.

Toch zijn er belangrijke veranderingen, die ons den toestand minder optimistisch doen inzien. Deze zijn:

1e toenemende dichtheid van bezetting met ratten in het besmette gebied;

2e nieuwe, soms zeer ver vooruitgeschoven infecties;

3e toenemende schade.

De toenemende dichtheid van bezetting en de grootere schade wijzen er zeer duidelijk op, dat de bisamrat zich thans sterk uitbreidt in Duitschland. Een publicatie over den stand en de uitbreiding van de bisamrat in Duitschland door Erika von Winning, opgenomen in het Nachrichtenblatt für den Deutschen Pflanzenschutzdienst, Maart 1934, bevat daarover allerlei gegevens. Zoo werden in Beieren in het binnengedrongen gebied in 1931 op 214 plaatsen 1186 bisamratten gevangen; in 1932 op 242 plaatsen 1818 stuks. Zoowel het aantal ratten als het aantal plaatsen waar zij gevangen konden worden, nam dus toe. Dit geldt wel niet voor alle deelen van Duitschland (in Thüringen was de toestand gunstiger), maar over het algemeen is er toename en zelfs belangrijke toename.

Gebleken is, dat opgeruimde infecties weer gaarne bewoond worden.

De afweerdienst heeft de vermeerdering niet kunnen tegenhouden en de „Sperrlinie" kon in 1932 niet gehandhaafd worden, d.w.z. alle nieuwe besmettingen konden niet worden opgeruimd. Er heeft dus thans voortdurend uitbreiding van het besmette gebied plaats en dit is voor ons zeer belangrijk.

Vooral geldt dit voor de nieuwe, van het besmettingsgebied ver afgelegen infecties. Deze zijn m.i. een duidelijke aanwijzing, dat de besmetting zich thans snel verplaatst.

Zoo is er in 1931 een bisamrat gevangen bij Stirpe-Ölingen,

kreis Wittlage. Deze plaats is slechts weinig ten Oosten van Osnabrück gelegen en slechts op 93 km afstand van de Nederlandsche grens. Ook zijn er besmettingen waargenomen zeer dicht bij en iets verder of ten Zuidoosten van Hamburg (zie fig. 1).

Deze nieuwe vindplaatsen moeten wij voor ons land als verontrustend beschouwen. Vooreerst is het een zeer ernstig verschijnsel, dat nieuwe infecties op zoo grooten afstand van het tot nu toe als besmet beschouwde gebied werden waargenomen. Het is mogelijk, dat zij geheel van toevalligen aard zijn, dat zij geheel op zichzelf staan en dat zij nog geheel uitgeroeid kunnen worden. Als dat alles het geval is, zouden zij geen eigenlijke uitbreiding van het besmette gebied in de richting van onze grens beteekenen. Ik meen ze echter wel als een bedreiging voor ons land te moeten opvatten, daar ik ze beschouw als het gevolg van algemeene toename van de bisamrat, welke mede veroorzaakt wordt door de vermindering van premies voor het vangen, die men noodgedwongen wegens geldgebrek heeft moeten toepassen. Het zou mij geenszins verwonderen, indien het aantal plaatsen, waar deze geïsoleerde infecties voorkomen, zal toenemen en dat daaruit zal blijken, dat het eigenlijke besmette gebied veel grooter is.

In elk geval moeten wij ons er rekenschap van geven dat de bisamrat kans gezien heeft, op slechts 93 km van onze grens zich te vertoonen en moeten wij ons er dus op voorbereiden, dat op een vooraf niet te bepalen oogenblik zal blijken, dat zij onze grens heeft overschreden. Het zal ongetwijfeld nuttig zijn, te zijner tijd de landelijke bevolking van het oostelijk deel van ons land op het verschijnen van de bisamrat voor te bereiden. Maar bij het vaststellen van de eerste besmetting(en) zal het toeval ongetwijfeld een groote rol spelen. Vrij zeker zal de besmetting van ons land een uitvloeisel zijn van de besmetting van het duitsche gebied en dit wil zeggen, dat als het eenmaal zoo ver komt, wij aan een blijvend besmettingsgevaar vanuit het Oosten onderworpen zullen zijn. Wij zullen dan wel genoodzaakt zijn een blijvende organisatie voor het vangen van bisamratten te maken, die verband houdt met het toezicht op dijken en waterloopen, om die te beschermen tegen de gevaren, die het woelen van dit dier voor onze waterkeeringen oplevert.

Zoover is het op dit oogenblik nog niet, maar het gevaar schijnt nu zoo dicht genaderd te zijn, dat wij met meer dan bijzondere belangstelling van alle gegevens over de vindplaatsen van bisamratten moeten kennis nemen.

Ook in Frankrijk komt de bisamrat voor. Daar hebben uit pelsdierfokkerijen ontsnapte (of losgelaten) dieren zich vastgezet

in de omgeving van Belfort en in het Departement Haut Rhin. Ik meende dat ook in de Maasvallei bisamratten waren waargenomen, maar daarvan heb ik geen bevestiging kunnen vinden. De aanwezigheid van de rat in het stroomgebied van de Maas zou het mogelijk maken, dat ons land van uit het Zuiden werd geïnfecteerd. Daarop is de kans thans echter nog uiterst gering.

De groote uitbreiding, die de bisamrat in Engeland en vooral in Schotland heeft verkregen levert voor ons land geen rechtstreeks gevaar op.

Ter voorlichting zij hier nog even een korte beschrijving van de bisamrat gegeven, die ik overgenomen heb uit het artikel over de bisamrat, dat door Prof. Ritzema Bos in de 23e jaargang (1917) van dit Tijdschrift is gepubliceerd. Zie ook Plaat IX.

„Men kan haar a.h.w. beschouwen als eene zeer groote woelrat, echter met een langen staart en met breede achterpooten.

Het volwassen mannetje kan eene maximumlengte van 58 cm bereiken, waarvan de staart ongeveer de helft inneemt; de afmetingen van de meeste exemplaren echter zijn aanmerkelijk geringer, inzonderheid die van de wijfjes, welke — zooals bij ratten en muizen in het algemeen het geval is — kleiner zijn dan de mannetjes.

De kop is rondachtig, tamelijk kort en breed, de snuit dik, afgestompt, de bovenlip gespleten en aan den kant met lange snorharen bezet. De ooren zijn kort, behaard en bijkans geheel onder de pels verscholen; zij kunnen worden gesloten, als het dier onder water duikt. De oogen zijn klein.

De romp is stevig, gedrongen van vorm. De achterpooten zijn langer dan de voorpooten. De laatsten hebben vier teenen, terwijl de duim door een wrat vervangen is. De achterpooten hebben vijf teenen, die allen aan hunne basis door een kort zwemvliesje verbonden zijn; zij dragen vrij lange klauwen. De geheele buitenrand van de achtervoeten, van de teenen zoowel als van den middenvoet, is met lange, dicht bijeenstaande haren bezet, welke de oppervlakte van de achtervoeten breeder maken en meer dan de korte zwemvliesjes er toe bijdragen om ze voor het zwemmen geschikt te doen zijn.

Het hoofdorgaan voor het zwemmen echter is de staart, die van links naar rechts is samengedrukt en aan het uiteinde zelfs een vrij scherpen bovenkant en onderkant heeft. Door den staart in 't water heen en weer te slaan, beweegt het dier zich zwemmende vooruit. Dit zwemorgaan wordt daarbij echter tevens slangvormig heen en weer gebogen. De staart is met kleine schubbetjes bezet, tusschen welke korte, tamelijk ver van elkaar ingeplante haartjes staan. Behalve als hoofdorgaan voor 't zwemmen dient

hij nog als steunsel, wanneer het dier zich op de achterpooten verheft, om rond te kijken of wel een tak te bereiken waar het anders niet bij kan.

De zachte, glimmende vacht bestaat uit dicht aaneengesloten haren; de wolharen zijn buitengewoon teer, fijn en kort, de dekharen zijn dubbel zoo lang als deze en zeer glimmend. De bovenkant van de vacht is doorgaans bruin, soms geelachtig; de onderkant is grijs, soms meer of minder roodachtig getint; de staart is zwart, de zwemharen langs de teenen en den middelvoet zijn wit, de teenen roodachtig horenkleurig."

Fig. 1. Verspreide vindplaatsen van de bisamrat in Duitschland met jaartal. Het gearceerde gedeelte is nu reeds blijvend besmet.

Ten einde de herkenning van de bisamrat, als deze tot over onze grens doordringt, te vergemakkelijken, voeg ik hierbij de afbeelding van de rat, die reeds in den hierboven vermelden jaargang (1927) van dit Tijdschrift was opgenomen. Wellicht zullen wij van deze afbeelding nog weer gebruik moeten maken.

De levenswijze van het dier is in het bovenvermelde artikel van Prof. Ritzema Bos uitvoerig beschreven. Ik acht het op dit oogenblik niet noodig deze te herhalen, maar het lijkt mij, in verband met het vaststellen van de aanwezigheid van de bisamrat wel van belang een afbeelding te geven van de woning,

zooals deze door deze rat vervaardigd wordt. Degene, die eenige aanwijzing vindt voor de aanwezigheid van een dergelijke woning gelieve daarvan onmiddellijk mededeeling te doen, opdat met zekerheid kan worden vastgesteld, of zij van een bisamrat is.

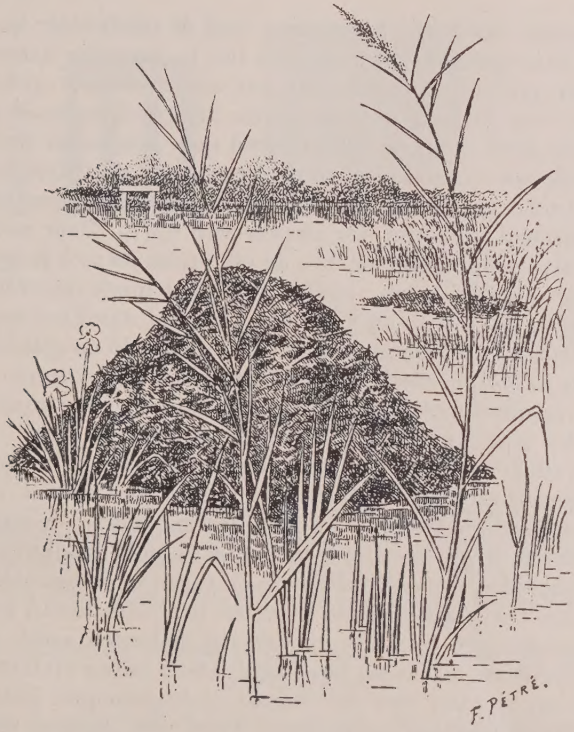

Fig. 2. Woning van de bisamrat (overgenomen uit: A Chapellier, Le rat musqué (Ondatra), Biologie et Lutte, Annales des Epiphyties 1933 No. 3.

KOOLVLIEGBESTRIJDING MET CARBOLINEUM

In Europa werd, ter bestrijding van de maden der koolvlieg, meer en meer gebruik gemaakt van het in Amerika hiervoor gebruikelijke middel, nl. sublimaat, ter sterkte van 1 op 1500. De giftigheid van dit middel werd echter als groot bezwaar gevoeld en daarom heeft men in Duitschland naar een ander middel gezocht. Volgens een zoo juist in de Deutsche Landwirtschaftliche Presse van 21 April gepubliceerd bericht zou dit gevonden zijn in vruchtboomcarbolineum, ter sterkte van 0,3%. Daar zoowel sublimaat als carbolineum slechts de eieren en de zeer jonge larven (tot 3 dagen oud) dooden, moeten zij op het juiste oogenblik worden aangewend, d.w.z. bij kool, die van eind April tot begin Juni geplant wordt: 4 dagen na het planten. Waar de mogelijkheid bestaat, dat in Mei bij reeds uitgeplante kool eieren kunnen worden afgezet, verdient het aanbeveling het middel twee maal toe te passen, dus eind April of begin Mei en 10 dagen daarna.

Daar vruchtboomcarbolineum nog goedkooper in het gebruik is dan sublimaat en het de nadeelen van dit giftige middel, nl. moeilijke oplosbaarheid (tenzij men pastilles gebruikt) en aantasting van metalen mist, verdient het ongetwijfeld aanbeveling, de werkzaamheid ervan ook voor onze culturen te onderzoeken. Men giet 75 cm per plant. Bij de proeven in Duitschland gebruikte men daarvoor een bus, die op den rug gedragen werd, waaraan twee gummislangen waren bevestigd. Deze waren op latten vastgemaakt en werden met de vingers dichtgeknepen (dus zonder kraan). Hiermede was het mogelijk twee rijen planten tegelijk te behandelen.

Daar alle negen beproefde carbolineumsoorten goede resultaten hebben opgeleverd, schijnt de werking meer een van teerolieën in het algemeen, dan die van een bepaalde samenstelling dezer olieën te zijn.

N. VAN POETEREN.